

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ESTUDO FARMACOGNÓSTICO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER (*VERBENACEAE*)

LÍVIA CRISTINA LIRA DE SÁ BARRETO

DISSERTAÇÃO
MESTRADO DO DEPARTAMENTO DE
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS / UFPE

RECIFE 2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ESTUDO FARMACOGNÓSTICO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER (*VERBENACEAE*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas na Área de Química de Produtos Naturais.

ORIENTADOR: PROF. DR. HAROUDO SATIRO XAVIER

AUTORA: LÍVIA CRISTINA LIRA DE SÁ BARRETO

RECIFE 2004



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

Recife, 17 de Setembro de 2004.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 17 de Setembro de 2004 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Haroudo Satiro Xavier (**Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco**).

Assinatura:

EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza (**Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco**).

Assinatura:

EXAMINADOR EXTERNO: Profa. Dra. Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel (**Departamento de Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco**).

Assinatura:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS

REITOR

Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Celso Pinto de Melo

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Silvana Cabral Maggi

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Antônio Rodolfo de Faria

COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

Miracy Muniz de Albuquerque

VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

Pedro José Rolim Neto

Dedico aos meus avós (*i. m.*),
Ricardo José de Lira e Maria
Gomes de Lira,
Luís Gouveia de Sá Barreto e
Ruth Gouveia de Sá Barreto

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, **Wilson Gouveia de Sá Barreto e Renêza Lira de Sá Barreto**, por terem tornado possível a realização deste sonho, sempre me apoiando e me compreendendo em todos os momentos.

AO MEU ESPOSO

Marcílio Sérgio Soares da Cunha Filho, pela compreensão, estímulo e companheirismo durante todo o meu trabalho.

AO PROFESSOR

Prof. Dr. Haroudo Satiro Xavier, pelos ensinamentos, pela paciência e acima de tudo pelo seu senso de humor em todos os momentos.

INSTITUIÇÕES

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE
Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA
Universidade Federal da Paraíba – UFPB
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq

AOS PROFESSORES

| | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| Prof. Dr. Haroudo Satiro Xavier | Profa. Dra. Maria do Carmo |
| Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho | Profa. Dra. Eulália Ximenes |
| Prof. Dr. Nicácio H. da Silva | Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza |
| Prof. Dr. Parviz Afiatpour | Profa. Dra. Olívia Cano |
| Prof. Dr. Raimundo Braz Filho | Profa. Dra. Rejane Pimentel |
| Prof. Dr. Sebastião José de Melo | Profa. Dra. Rita de Cássia |

MINHAS IRMÃS

Leila Cristina de Sá Barreto Teixeira e Lília Maria Cristina Lira de Sá Barreto

AOS AMIGOS

| | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|
| Aldo Passilongo | Jovita Farias |
| Aline Celeste Ferreira | Juliana Meira |
| Ana Paula Ochoa | Karina Perrelli Randau |
| Clébio Pereira Ferreira | Késia Peixoto |
| Cristiane Rocha | Lúcia Roberta de Souza Filizola |
| Cristiano Rocha | Luciana Lima |
| Danielle Lordão | Lúcio Pimentel |
| Diogo Florêncio | Marcos Oliveira |
| Elaine Carvalho | Nádia Cabral |
| Evani L. de Araújo | Osnir Viana |
| Francisco Mendonça Júnior (Chico) | Priscila Corrêa |
| Ivana Glaucia Barroso Cunha | Rejane Souza Silva |
| Janaína Anjos | Sabrina Torres |
| João Eudes do Nascimento | Severino G. Júnior (Ceará) |
| José Guedes Sena | Simone Thorpe Pernambuco |
| José Lamartine | Vandessa Cristina da Silva Monteiro |

Youssef Conrado Haun
Zênia Maciel Lavra

SUMÁRIO

| | |
|---|------------|
| LISTA DE ABREVIATURAS | I |
| LISTA DE TABELAS | II |
| LISTA DE FIGURAS | III |
| LISTA DE GRÁFICOS | IV |
| RESUMO | V |
| ABSTRACT | VI |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. OBJETIVOS | 4 |
| 2.1. OBJETIVO GERAL | 4 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 4 |
| CAPÍTULO I: ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER | 5 |
| 1. FARMACOBOTÂNICA | 5 |
| 1.1. ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA ACTA BOTÂNICA BRASÍLICA | 5 |
| CARACTERIZAÇÃO DA ANATOMIA DO CAULE E DA FOLHA DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER | |
| 2. FARMACOQUÍMICA | 14 |
| 2.1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2.2. MATERIAL E MÉTODOS | 15 |
| 2.2.1. MATERIAL VEGETAL | 15 |
| 2.2.2. DROGAS E REAGENTES | 15 |
| 2.2.3. EQUIPAMENTOS | 16 |
| 2.2.4. OUTROS | 17 |
| 2.2.5. ABORDAGEM FITOQUÍMICA DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER | 17 |
| 2.2.6. PESQUISA DE ALCALÓIDES | 19 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.7. PESQUISA DE MONOTERPENÓIDES, SESQUITERPENÓIDES E DITERPENÓIDES | 19 |
| 2.2.8. PESQUISA DE TRITERPENÓIDES E ESTERÓIDES | 19 |
| 2.2.9. PESQUISA DE IRIDÓIDES | 19 |
| 2.2.10. PESQUISA DE SAPONINAS | 20 |
| 2.2.11. PESQUISA DE AÇÚCARES | 20 |
| 2.2.12. PESQUISA DE CUMARINAS | 20 |
| 2.2.13. PESQUISA DE ÁCIDO GÁLICO | 20 |
| 2.2.14. PESQUISA DE FLAVONÓIDES | 20 |
| 2.2.15. PESQUISA DE FENILPROPANOGLICOSÍDEOS | 21 |
| 2.2.16. PESQUISA DE PROANTOCIANIDINAS CONDENSADAS E LEUCOANTOCIANIDINAS | 21 |
| 2.2.17. PESQUISA DE TANINOS HIDROLISÁVEIS | 21 |
| 2.2.18. PESQUISA DE QUINONAS | 22 |
| 2.2.19. ISOLAMENTO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS PRESENTES NAS CASCAS DO CAULE DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER | 22 |
| 2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 23 |
| 2.3.1. ABORDAGEM FITOQUÍMICA | 23 |
| 2.3.2. ANÁLISE ESPECTROMÉTRICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE EMC | 25 |
| 2.3.2.1. ESTRUTURA DO COMPOSTO VA | 25 |
| 2.3.2.2. ESTRUTURA DO COMPOSTO VB | 27 |
| CAPÍTULO II: ATIVIDADE BIOLÓGICA DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER | 30 |
| 1. INTRODUÇÃO | 30 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 31 |
| 2.1. SUBSTÂNCIAS TESTADAS | 31 |
| 2.2. ANIMAIS | 32 |
| 2.3. MICRORGANISMOS | 32 |

| | |
|--|-----------|
| 2.4. MATERIAL E EQUIPAMENTOS | 32 |
| 2.5. MEIOS DE CULTURA | 33 |
| 3. OBSERVAÇÃO DE ATIVIDADE GERAL E TOXICIDADE AGUDA DE EMF E EMC ADMINISTRADOS POR VIA ORAL E INTRAPERITONEAL | 33 |
| 4. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DEPRESSORA NO SNC DE EMC E EMF: POTENCIALIZAÇÃO DO SONO BARBITÚRICO | 33 |
| 5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-EDEMATOGÊNICA DE EMF E EMC: EDEMA DE PATA | 34 |
| 6. SEGUNDA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-EDEMATOGÊNICA DE EMF: EDEMA DE PATA | 34 |
| 7. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DE EMF: CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO | 34 |
| 8. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MOLUSCICIDA DE EMF, EMC E VB | 35 |
| 9. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EMF E EMC: DIFUSÃO EM MEIO SÓLIDO | 35 |
| 10. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 36 |
| 10.1. OBSERVAÇÃO DA ATIVIDADE GERAL E TOXICIDADE AGUDA DE EMF E EMC ADMINISTRADOS POR VIA ORAL E INTRA-PERITONEAL | 36 |
| 10.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DEPRESSORA NO SNC DE EMC E EMF: POTENCIALIZAÇÃO DO SONO BARBITÚRICO | 36 |
| 10.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-EDEMATOGÊNICA DE EMF E EMC: EDEMA DE PATA | 38 |
| 10.4. SEGUNDA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-EDEMATOGÊNICA DE EMF: EDEMA DE PATA | 39 |
| 10.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DE EMF: CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO | 41 |
| 10.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MOLUSCICIDA DE EMF, EMC E VB | 41 |
| 10.7. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EMF E EMC: DIFUSÃO EM MEIO SÓLIDO | 42 |
| 3. CONCLUSÕES | 43 |
| 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 45 |

| | |
|--|-----------|
| 5. ANEXOS | 57 |
| 5.1. ANEXO I: TABELA 13. EXEMPLOS DE MOLÉCULAS ISOLADAS E CARACTERIZADAS NO GÊNERO <i>VITEX</i> | 57 |
| 5.2. ANEXO II: ESPECTROS DO COMPOSTO VA ISOLADO DAS CASCAS DO CAULE DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER (<i>VERBENACEAE</i>) | |
| 5.3. ANEXO III: ESPECTROS DO COMPOSTO VB ISOLADO DAS CASCAS DO CAULE DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER (<i>VERBENACEAE</i>) | |

LISTA DE ABREVIATURAS

% -percentagem
(-) – Negativo
(+) – Positivo
µg – Micrograma
°C – Graus centígrados
2D – Segunda dimensão
AcOEt – Acetato de etila
AcOH – Ácido acético
CCD – Cromatografia em camada delgada
DAUFPE – Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco
EMC – Extrato metanólico das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer
EMF – Extrato metanólico das folhas de *Vitex gardneriana* Schauer
EMR – Extrato metanólico das cascas das raízes de *Vitex gardneriana* Schauer
FAA 50 – Formaldeído, Álcool etílico a 50 % e Ácido Acético
g – Grama
h – Hora
H₂O – Água
H₂SO₄ – Ácido sulfúrico
HCl – Ácido clorídrico
HCOOH – Ácido fórmico
i.p. – via intraperitoneal
IC – Isolado Clínico
IPA – Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária
Kg – Quilograma
KOH – Hidróxido de potássio
Me₂CO – Acetona
MeOH – Metanol
mg – miligrama
min. – Minuto
mL- mililitro
n-BuOH – n-Butanol
nm – nanômetro
p/v – peso/volume
ppm – partes por milhão
Rf – Fator de Retenção
RMN – Ressonância magnética nuclear
seg. – segundo
ss – erro padrão
T.I. – Tempo de Indução
T.R. – Tempo de Retenção
U.V. – Ultravioleta
UFPE - Universidade Federal de Pernambuco
v.o. - Via Oral
v/v – volume/volume
VA -20-hidroxi ecdisona (ecdisteróide)
VB – Aucubina (iridóide glicosídeo)

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 1. Publicações farmacognósticas no gênero <i>Vitex</i> | 14 |
| TABELA 2. METABÓLITOS, SISTEMAS DE ELUIÇÃO, REVELADORES E REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS UTILIZADAS PARA A ABORDAGEM FITOQUÍMICA DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER. | 18 |
| TABELA 3. METABÓLITOS ENCONTRADOS NAS FOLHAS, CASCAS DO CAULE E DAS RAÍZES DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER. | 24 |
| TABELA 4. DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO COMPOSTO VA | 26 |
| TABELA 5. DADOS ESPECTROSCÓPICOS DO COMPOSTO VB | 28 |
| TABELA 6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DEPRESSORA NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DAS CASCAS DO CAULE DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER ATRAVÉS DO ENSAIO DE POTENCIALIZAÇÃO DO SONO BARBITÚRICO. | 37 |
| TABELA 7. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DEPRESSORA NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DAS FOLHAS DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER ATRAVÉS DO ENSAIO DE POTENCIALIZAÇÃO DO SONO BARBITÚRICO. | 38 |
| TABELA 8. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-EDEMATOGÊNICA DAS FOLHAS E DAS CASCAS DO CAULE DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER ATRAVÉS DO ENSAIO DE EDEMA DE PATA. | 39 |
| TABELA 9. SEGUNDA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-EDEMATOGÊNICA DAS FOLHAS DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER ATRAVÉS DO ENSAIO DE EDEMA DE PATA. | 40 |
| TABELA 10. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO EXTRATO METANÓLICO DAS FOLHAS DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER. | 41 |
| TABELA 11. ATIVIDADE MOLUSCICIDA DE EMF, EMC E VB | 42 |
| TABELA 12. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS METANÓLICOS DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER ATRAVÉS DA TÉCNICA DE DIFUSÃO EM AGAR | 43 |
| TABELA 13. ANEXO I. EXEMPLOS DE MOLÉCULAS ISOLADAS E CARACTERIZADAS NO GÊNERO <i>VITEX</i> | 57 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1. HABITO DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER | 2 |
| FIGURA 2. INFLORESCÊNCIA DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER | 2 |
| FIGURA 3. REPRODUÇÃO DAS PARTES AÉREAS DE <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER | 3 |
| FIGURA 4. CROMATOGRAMA DE MONOTERPENÓIDES, SESQUITERPENÓIDES E DITERPENÓIDES. | 24 |
| FIGURA 5. CROMATOGRAMA DE FENILPROPANOGLICOSÍDEOS | 24 |
| FIGURA 6. CROMATOGRAMA DE FLAVONÓIDES. | 25 |
| FIGURA 7. CROMATOGRAMA DE IRIDÓIDES. | 25 |
| FIGURA 8. ESTRUTURA DO COMPOSTO VA | 27 |
| FIGURA 9. ESTRUTURA DO COMPOSTO VB | 28 |
| FIGURA 10. PADRÃO DE FRAGMENTAÇÃO NO ESPECTRO DE MASSAS DE VB | 29 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| GRÁFICO 1. Avaliação da atividade depressora no SNC de EMC 1000 mg/Kg e 2000 mg/Kg. Tempo de Indução. | 36 |
| GRÁFICO 2. Avaliação da atividade depressora no SNC de EMC 1000 mg/Kg e 2000 mg/Kg. Tempo de Recuperação | 36 |
| GRÁFICO 3. Avaliação da atividade depressora no SNC de EMF 1000 mg/Kg e 2000 mg/Kg. Tempo de Indução. | 37 |
| GRÁFICO 4. Avaliação da atividade depressora no SNC de EMF 1000 mg/Kg e 2000 mg/Kg. Tempo de Recuperação. | 37 |
| GRÁFICO 5. Avaliação da atividade anti-edematogênica dos EMF e EMC: edema de pata. | 38 |
| GRÁFICO 6. Segunda Avaliação da Atividade Anti-edematogênica de EMF 1000 mg/Kg. | 40 |
| GRÁFICO 7. Avaliação da atividade antinociceptiva de EMF 1000 mg/Kg | 41 |
| GRÁFICO 8. Avaliação da atividade moluscicida de EMF, EMC e VB | 42 |

RESUMO

Vitex gardneriana Schauer – *Verbenaceae* é uma árvoreta encontrada nas caatingas do nordeste brasileiro, sendo vulgarmente chamado de "jaramataia", "jeremataia", "girimato", "tamanca" ou "tamanqueira". Suas folhas são utilizadas na medicina popular como calmante e antiinflamatório. Este trabalho compreende um estudo farmacobotânico, fitoquímico e biológico, até então não realizados em profundidade com este vegetal. Os primeiros forneceram subsídios para a caracterização da matéria-prima. Duas substâncias foram isoladas do extrato metanólico das cascas do caule, 20-hidroiecdisona (ecdisteróide) e aucubina (iridóide glicosídeo). O esteróide está sendo relatado pela primeira vez na família *Verbenaceae*. O iridóide apresentou pronunciada atividade moluscicida, assim como os extratos metanólicos das folhas e cascas do caule (100 ppm). Ensaio de toxicidade, atividade depressora no SNC, ação anti-edematogênica, antinociceptiva e microbiológica, também foram realizados. Apenas o extrato metanólico das folhas demonstrou efetiva atividade depressora no SNC ao potencializar o sono barbitúrico, atividade anti-edematogênica e antinociceptiva, corroborando o conhecimento popular. Quanto ao ensaio microbiológico, nenhum dos extratos exibiu capacidade inibitória do crescimento microbiano. Constatou-se, na abordagem fitoquímica, a presença de monoterpenóides, sesquiterpenóides, diterpenóides, triterpenóides, esteróides (β -amirina e β -sitosterol), iridóides, saponinas, açúcares, flavonóides e fenilpropanoglicosídeos. Não foram observados alcalóides, cumarinas, ácido gálico, proantocianidina condensadas, leucoantocianidinas, taninos hidrolisáveis e quinonas.

ABSTRACT

Vitex gardneriana Schauer - *Verbenaceae* is a shrub encountered in the Brazilian northeast's ecosystem "caatinga". It is popularly called "jaramataia", "jeremataia", "girimato", "tamanca" or "tamanqueira". In the folk medicine, the leaves of *V. gardneriana* are used as sedative and anti-inflammatory. This work describes pharmacobotanical, phytochemical and biological studies what, until now, was not accomplished with this plant. The pharmacobotanical and phytochemical studies gave us data for the characterization of the raw material. In this way, two substances were isolated from the methanolic extract of the stem bark of *V. gardneriana*, the 20-hydroxyecdysone (an ecdysteroid) and the aucubin (an iridoid glycoside). This is the first time that this steroid is described as a secondary metabolite in the *Verbenaceae*. The crude methanolic extracts of the leaves and stem bark presented significant molluscicidal activity. The same behavior was observed with the iridoidic compound. Toxicological assays, depressive activity of the central nervous system, anti-inflammatory, analgesic and antimicrobial activities were performed with the methanolic extracts of the leaves and stem bark of *V. gardneriana*. However, only the methanolic extract from the leaves showed significant depressive, anti-inflammatory and analgesic activities, justifying the use of *Vitex gardneriana* in the folk medicine. In contrast to these findings, both the extracts showed no significant antimicrobial activity. In the phytochemical boarding it was verified the presence of monoterpenoids, sesquiterpenoids, diterpenoids, triterpenoids, steroids (β -amirine and β -sytosterol), iridoids, saponins, sugars, flavonoids and fenyylpropanoglycosides. In the other hand, it was not verified the presence of alkaloids, coumarins, galic acid, condensed proantocianidines, leucoantocianidines, tannins and quinones.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Vitex gardneriana Schauer é uma das poucas *Verbenaceae* arbóreas encontradas no sertão nordestino, frequentemente às margens ou leito dos rios, como na ribanceira do rio Espinharas, na Paraíba, às margens do rio Moxotó, em Pernambuco, e em Taparuaba, no Ceará. O vulgo a tem como “jaramataia”, “jeremataia”, “girimato”, “tamanca” ou “tamanqueira”, servindo-se das cascas do seu caule marrom esverdeado para o preparo de chá, usado como abortivo e calmante, à semelhança do que acontece com outros representantes de *Vitex*, como *V. agnus-castus* (DRAGENDORFF, 1898) e *V. cannabifolia* (GOTO, 1957).

Farmacotimologicamente, *Vitex* deriva do latim *vitilium*, ou do grego *vieo* que significa trançado, entrelaçado, unido, uma alusão aos ramos duros, mas flexíveis, usados na construção de cercas, vergas, e ripas (MAIA, 2001; PLOWDEN, 1968). O nome da espécie, *gardneriana*, por sua vez, é uma homenagem feita pelo botânico alemão Johan Konrad Schauer, que descreveu a espécie, ao pesquisador inglês George Gardner, que em meados do século XVII, excursionou pelo Vale do Jaguaribe, tendo habitado durante muito tempo o cariri cearense (BRAGA, 1976).

O vegetal pode ser descrito como uma arvoreta de 6 a 7 metros de altura (cf. Figura 1), com inflorescências axilares-terminais, cimeiras parvifloras, densamente pubéculas, cálice sinsépalo, subcampanulado, piloso, sua corola apresenta coloração roxa clara com tubo torcido para cima e comprimido lateralmente na porção superior, com o lacínio superior mais desenvolvido (cf. Figura 2). Folhas simples, opostas, decussadas, lanceoladas ou obovado-lanceoladas, curto-pecioladas, limbo coriáceo, apresentando dorso mais claro, com nervuras primária e secundárias bem salientes e escuras, face dorsal pubescente, bordos inteiros ou ligeiramente ondulados, base obtusa a arredondada, eventualmente assimétrica, ápice obtuso, agudo, até apiculado (cf. Figura 3). Possui drupa comestível, carnosa, ovóide a elipsóide, com apículo diminutivo, verde oliva, passando, quando seco, a quase negro, apresenta cálice sinsépalo, permanente no fruto, com paredes espessas e rígidas, com um semente por lóculo, de coloração castanha clara, com superfície fosca, em pequenas câmaras (LIMA, 1989).

Há vários estudos demonstrando a atividade biológica e isolamento de substâncias presentes em diversas espécies de *Vitex*, entretanto nenhum estudo fitoquímico e de bioatividade com o vegetal em tela fora desenvolvido anteriormente. Salvo uma abordagem realizada há cerca de três décadas passadas, demonstrando que o

extrato etanólico das cascas do seu caule era desprovido de toxicidade para ratos e peixes, evidenciando uma ação estimulante na musculatura abdominal de sapos, assim como em íleo de cobaias e musculatura uterina de ratas, sem demonstrar efeito depressor na respiração e pressão sanguínea de gatos (BARROS, 1970).



Figura 1. Hábito de *Vitex gardneriana* Schauer.



Figura 2. Inflorescência de *Vitex gardneriana* Schauer.



Figura 3. Reprodução das partes aéreas de *Vitex gardneriana* Schauer.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver estudos farmacognósticos e biológicos com a espécie *Vitex gardneriana* Schauer, buscando oferecer maiores subsídios ao seu conhecimento.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Analisar a epiderme e a estrutura interna da folha e do caule de *Vitex gardneriana* Schauer;
- ✓ Realizar o perfil cromatográfico da espécie *Vitex gardneriana* Schauer (folha, casca do caule e raiz);
- ✓ Extrair, isolar, purificar e realizar a elucidação estrutural dos metabólitos secundários nas cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer;
- ✓ Realizar ensaios biológicos com o extrato metanólico das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer:
 - Atividade geral e toxicidade aguda;
 - Ensaio microbiológico;
 - Atividade Anti-edematogênica;
 - Efeito depressor no SNC e
 - Ação moluscicida.
- ✓ Realizar ensaios biológicos com o extrato metanólico das folhas de *Vitex gardneriana* Schauer:
 - Atividade geral e toxicidade aguda;
 - Ensaio microbiológico;
 - Atividade Anti-edematogênica;
 - Efeito depressor no SNC;
 - Atividade Antinociceptiva e
 - Ação moluscicida.
- ✓ Realizar ensaios biológicos com a substância isolada das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer:
 - Ação moluscicida

**CAPÍTULO I: ESTUDO FARMACOGNÓSTICO
DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER**

CAPÍTULO I: ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER

1. FARMACOBOTÂNICA

1.1. Artigo submetido à Revista Acta Botânica Brasílica

Caracterização da Anatomia do Caule e da Folha de *Vitex gardneriana* Schauer¹

Lívia Cristina Lira de Sá Barreto(*)², Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel³, Haroudo Satiro Xavier².

RESUMO - (Caracterização da Anatomia do Caule e da Folha de *Vitex gardneriana* Schauer). Descrições anatômicas do caule e da folha de *Vitex gardneriana* Schauer foram realizadas em secções paradérmicas e transversais, à mão livre, coradas com safranina e azul de astra. As análises foram feitas em imagens capturadas com câmera digital e microscópio ótico. O caule, em estrutura primária, mostrou-se revestido por epiderme simples com pêlos simples, 3-unisseriado; em estrutura secundária, apresentou periderme com súber composto por faixas de células colenquimatosas. O cilindro vascular do pecíolo apresentou arranjo vascular nodal multilacunar de anel com pequenos feixes inclusos de tamanhos variados, semelhante àquele encontrado nas nervuras foliares. A epiderme abaxial se caracterizou pela presença de inúmeras depressões contendo uma profusão de pêlos simples 3-unisseriados. Nestas depressões foram observados inúmeros estômatos com reduzidas câmaras subestomáticas.

Palavras chaves: Verbenaceae, anatomia, *Vitex gardneriana*.

ABSTRACT - (Characterization from the Stem and Leaf Anatomy of *Vitex gardneriana* Schauer). Stem and leaf anatomical descriptions of *Vitex gardneriana* Schauer in transversal and paradermal free-hand sections, stained with safranin and astra blue, were made. All the analysis was done in images obtained through a digital camera under a light microscope. The stem, in primary structure, is covered by a simple epidermis with simple hairs, 3-unisseriate; in secondary structure, showed a periderm with composed cork of colenquimatous cells bands. The vascular cylinder from the petiole showed multilacunar nodal vascular arrangement in ring with short included bands, similar the ones in the leaf veins. The abaxial epidermis was characterized by the

presence of innumerable depressions with a profusion of simply hairs 3-uniserial. In these depressions the stomata with reduced substomatic camera were observed.

Key Words: Verbenaceae, anatomy, *Vitex gardneriana*.

Introdução

Vitex gardneriana Schauer é uma das poucas *Verbenaceae* arbóreas encontradas no sertão nordestino, freqüentemente às margens ou leito dos rios, como na ribanceira dos rios Piranhas e Espinharas, na Paraíba, às margens do rio Moxotó, em Pernambuco, e em Taperuaba, no Ceará. O vulgo a tem como “jaramataia”, “jeremataia”, “girimato”, “tamanca” ou “tamanqueira”, servindo-se das cascas do seu caule marrom esverdeado para o preparo de chá usado como abortivo e calmante, à semelhança do que se observa com outros representantes de *Vitex*, como *V. agnus-castus* (Enke 1898) e *V. cannabifolia* (Goto 1957).

São plantas que, além de serem conhecidas por possuírem óleos essenciais, se destacam como ornamentais, como é o caso de algumas espécies dos gêneros *Vitex*, *Clerodendrum*, *Callicarpa*, *Lantana* e *Verbena* (Macfarlane *et al.* 2000). A espécie em estudo carece de informações fitoquímicas, farmacobotânicas e de bioatividade, excetuando-se, com relação a esta última, um trabalho efetuado com o extrato etanólico das cascas do caule, onde se mostrou estimulante da musculatura abdominal em sapos, assim como em íleo de cobaias e musculatura uterina de ratas, sem apresentar efeito depressor na respiração e pressão sanguínea de gatos.

A inexistência de informações acerca da caracterização da espécie e conseqüente possibilidade da utilização de espécies distintas que possuem denominações vulgares semelhantes motivaram a realização do estudo da morfologia externa e estrutura anatômica das folhas de *V. gardneriana* Schauer.

Material e Métodos

Exemplar tipo de *V. gardneriana* Schauer se encontra depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima (Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA), exsicata IPA 60308, identificado pela Dra. Rita de Cássia Araújo Ferreira. Indivíduos de *V. gardneriana* foram coletados em ambiente de caatinga, às margens do Rio Espinharas no município de São José das Espinharas, Paraíba, Nordeste do Brasil.

Amostras de caule jovem e iniciando desenvolvimento secundário e folhas maduras, incluindo o pecíolo, foram fixadas em FAA 50 (Johansen 1940) até a confecção de lâminas semipermanentes. Para a análise da epiderme foi utilizado o método de dissociação em solução de hipoclorito de sódio em concentrações variando entre 10 e 30%, por período variável, dependendo da amostra. Fragmentos epidérmicos foram isolados, lavados em água destilada, neutralizados em água acética 1%, corados com Safranina e Azul de Astra (Bukatsch 1972), montados em glicerina 50%.

A análise da estrutura interna do caule e folha foi realizada em secções transversais destes órgãos, obtidas em cortes à mão livre, utilizando lâmina comum de barbear. As observações anatômicas do mesofilo foram realizadas em secções transversais da região mediana do terço médio da lâmina foliar, neutralizadas em água acética 1%, coradas com Safranina e Azul de Astra (Bukatsch 1972) e montadas em glicerina 50%.

Todas as análises anatômicas foram realizadas em imagens digitais capturadas por câmera digital acoplada a um microscópio ótico e analisadas utilizando o programa de análise de imagens *Image Tool* (Wilcox *et al.* 2002).

Resultados e Discussão

V. gardneriana Schauer é uma arvoreta de folhas simples, opostas, decussadas, lanceoladas ou obovado-lanceoladas, curto-pecioladas, limbo coriáceo, apresentando dorso mais claro, com nervuras primárias e secundárias bem salientes e escuras, face dorsal pubescente, bordos inteiros ou ligeiramente ondulados, base obtusa a arredondada, eventualmente assimétrica, ápice obtuso, agudo, até apiculado.

O caule jovem de *V. gardneriana* mostrou contorno circular, em vista transversal (Fig. 1), revestido por epiderme contendo com inúmeros pêlos simples, 3-unisseriados, com a célula apical geralmente muito alongada com ápice agudo. Imediatamente abaixo da epiderme foram evidenciadas 3-4 camadas de colênquima do tipo angular.

Em estrutura secundária, o caule apresentou revestimento por periderme com súber composto por faixas de células colenquimatosas (Fig. 2), semelhante à descrição apresentada por Metcalfe & Chalk (1950). Esta hipoderme está constituída por estratos com 1-4 camadas de pequenas células lignificadas, sempre intercaladas com 1 camada de células parenquimáticas, alongadas anticlinalmente (Fig. 2). No interior do parênquima cortical foram observados grandes grupos de fibras esclerenquimáticas,

distribuídos numa faixa que circunda o cilindro central (Figs. 1 e 3). A região medular está constituída de parênquima com células homogêneas, poligonais, excetuando-se uma estreita faixa de pequenas células arredondadas, mais próxima ao xilema primário. As maiores células parenquimáticas apresentaram inúmeros e diminutos grãos de amido em seu interior, indicando que a espécie está adaptada às condições do meio onde se encontra. No cilindro central, o xilema paratraqueal se apresenta sob a forma de um anel contínuo (Fig. 4). O anel de xilema é contínuo, com as células floemáticas recobertas por uma faixa descontínua de fibras esclerenquimáticas (Fig. 1).

A vista transversal da porção mediana do pecíolo de *V. gardneriana* se mostrou de contorno ligeiramente oval, revestido por epiderme uniestratificada, constituída por diminutas células e discreto espessamento cuticular (Fig. 5). Na epiderme foram encontrados inúmeros pêlos simples, 3-unisseriados, semelhantes àqueles encontrados na lâmina foliar e sua densidade é maior na epiderme dorsal. O pecíolo não apresentou um colênquima perfeitamente definido, com células mostrando espessamento de parede muito discreto.

O cilindro vascular do pecíolo mostrou arranjo vascular nodal multilacunar de anel com pequenos feixes inclusos de tamanhos variados (Fig. 5), semelhante àquele encontrado nas nervuras (Fig. 6). Estes pequenos feixes se apresentaram interconectados e mostraram considerável desenvolvimento do tecido floemático.

Em secção transversal da região mediana da lâmina foliar, a epiderme adaxial (Fig. 7) apresentou paredes anticlinais retas, constituída por grandes células com paredes periclinais externas planas, recobertas por uma cutícula pouco desenvolvida e pêlos tectores. Entretanto, a epiderme abaxial se caracterizou pela presença de inúmeras depressões (Fig. 8), contendo uma profusão de pêlos simples 3-unisseriados. Nestas depressões foram observados estômatos com reduzidas câmaras subestomáticas (Fig. 9, 10). A disposição de estômatos em depressões, além da associação com o desenvolvimento de inúmeros pêlos, é interpretada por diversos autores (Fahn 1975; Metcalfe & Chalk 1972; Cutter 1987) como um mecanismo associado a uma redução na perda de água por evapotranspiração. A epiderme abaxial, em vista frontal, segundo Metcalfe & Chalk (1972), apresenta diminutos estômatos em cripta, semelhantes ao tipo III de *Mouriri* spp., entretanto, a identificação do tipo estomático não foi possível. A vista frontal desta epiderme mostrou um conjunto de cavidades repletas de pêlos tectores (Fig. 8, setas).

A epiderme adaxial, com ausência de cavidades estomáticas, está constituída por cerca de 2-3 camadas de células sobre regiões de nervuras secundárias, podendo significar uma forma de acumular água. Da mesma forma, nas regiões de comunicação entre nervuras menores, foi observada, imediatamente sob ambas as epidermes, uma média de 4 camadas de células subepidérmicas, reconhecida como hipoderme por Keinholtz (1926, citado por Metcalfe & Chalk 1972). As células epidérmicas e subepidérmicas da face adaxial foram sempre maiores que aquelas da face abaxial (Fig. 9). Uma hipoderme adaxial internerval, com 1-2 camadas de células e até 5 camadas, foi encontrada nas regiões imediatamente sobre as nervuras de menor calibre (Fig. 9), estando interrompidas nas regiões entre as mesmas. Nestas regiões internervais, a hipoderme se mostrou mais desenvolvida, chegando a apresentar diversas camadas de células alongadas periclinalmente, ocupando quase a metade da espessura do mesofilo.

O mesofilo apresentou tecido paliçádico sem espaços intercelulares, em 3-4 camadas e discreto tecido esponjoso, caracterizado apenas pelas dimensões reduzidas de suas células, ocupando, na maioria das vezes, uma quase imperceptível faixa no mesofilo (Fig. 9). A presença de tecido paliçádico compacto no mesofilo de espécies de *Vitex* foi reconhecida por Metcalfe & Chalk (1972).

A nervura principal das folhas de *V. gardneriana* apresentou projeção arredondada da costela inferior e ausência de saliência na região da costela superior (Fig. 6). Está constituída por uma estrutura vascular similar àquela observada no caule e pecíolo (Figs. 1 e 5), circundada por uma faixa de esclerênquima.

Em todas as nervuras, sem exceção, extensões parenquimáticas da bainha do feixe estiveram sempre presentes, em ambas as faces, se estendendo até as epidermes (Fig. 9). Em todos os feixes vasculares, estas extensões de bainhas se estenderam, em 1-2 fileiras de células, como vigas, até às epidermes ou hipoderme (Fig. 9). Estas células foram interpretadas por Mullan (1931, citado por Metcalfe & Chalk 1972) como um tecido armazenador de água transcurrente às nervuras em espécies de *Vitex*. Aparentemente mais um indicativo de estratégia para enfrentar condições de estresse hídrico.

Conclusões

A estruturação anatômica do caule e folhas de *V. gardneriana* é complementar em estudos farmacognósticos e, por este motivo, é essencial uma exata identificação desta espécie. Visto que esta é, aparentemente, a primeira referência às características anatômicas desta espécie, o referido estudo se mostra de extrema importância para uma eficiente aplicabilidade desta planta à Farmacognosia.

A ausência de um espessamento da cutícula parece ser compensada por uma reduzida área de lâmina foliar. Além disso, a exibição de um tecido armazenador de água transcurrente às nervuras, associada à disposição de estômatos diminutos em depressões, além da presença de inúmeros pêlos nestas cavidades, parecem ser características indicadoras de adaptação à restrição hídrica enfrentada por esta espécie em sua área de ocorrência no Sertão Nordestino.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao CNPq, pelo suporte financeiro à aluna de mestrado Lívia Cristina Lira de Sá Barreto. Agradecemos também à Profa. Dra. Rita de Cássia Araújo Ferreira, da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA, pela identificação botânica da espécie em estudo.

Referências bibliográficas

- Barros, G.S.G.; Matos, F.J.A.; Vieira, J.E.V.; Souza, M.P. & Medeiros, M.C. 1970. Pharmacological screening of some Brazilian plants. **Journal of Pharmacy and Pharmacology** **22**:116-122.
- Braga, R. 1976. Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará. **Coleção Mossoroense** **42**. Mossoró.
- Bukatsch, F. 1972. Bemerkungen zur doppelarfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos** **61**(8): 255.
- Cutter, E.G. 1987. **Anatomia Vegetal: Órgãos-Experimentos e Interpretação**, Trad. Gabriela Vera Maria Caruso Catena v.2. São Paulo, Roca.
- Dragendorff, G. 1898.** Die Heilpflanzen Der Verschiedenen Volker Und Zeiten, **F. Enke, Stuttgart.**

Fahn, A. 1985. **Anatomia Vegetal**. Ediciones Pirámide S.A., Madrid.

Goto, M.; Noguchi, T.; Watanabe, T.; Ishikawa, I.; Komatsu, M. & Aramaki, Y. 1957.
Uterus-Contracting Ingredients in Plants. **Takeda Kenkyusho Nempo 16:21**.

Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book, New York.

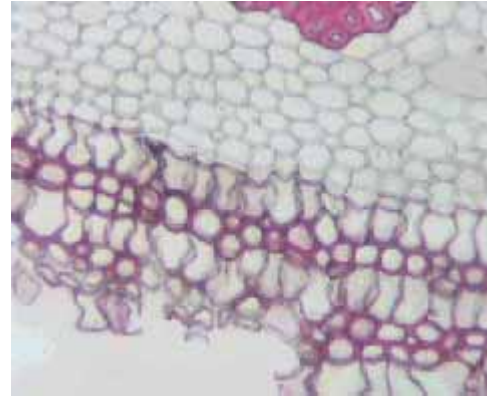
Metcalf, C. R.; Chalk, L. 1972. **Anatomy of Dicotyledons**. 2 vols. Clarendon Press.
Oxford.

van Cothem, W.R.J. 1970. **Botanical Journal of Linnean Society**. **63**: 235-246.

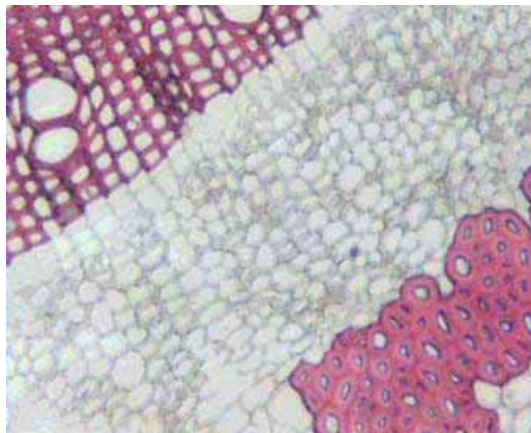
Wilcox, D.; Dove, B.; McDavid, D. & Greer, D. 2002. **Image Tool**. University of Texas
Health Science Center. San Antonio. Texas.



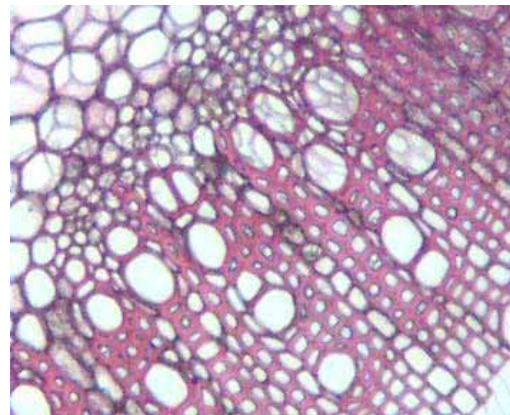
1



2



3

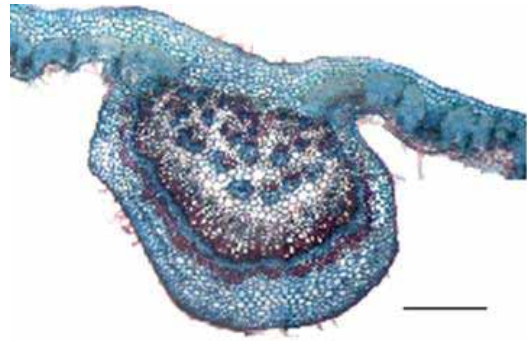


4

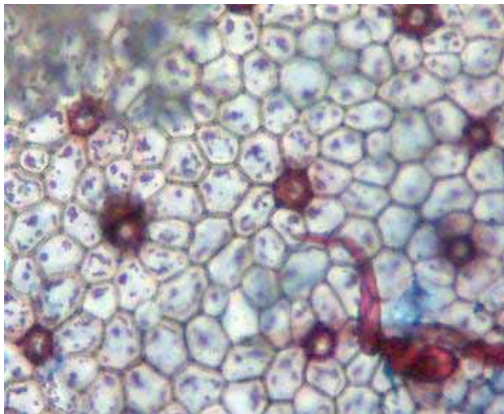
Figuras 1-4. Caule de *Vitex gardneriana* Schauer. 1. Vista transversal do caule. 2. Início da formação de periderme ainda com hipoderme colenquimatosa. 3. Região de transição entre o xilema e o floema. 4. Vasos xilemáticos. Barras: 1-2 = 100 μ m; 3-4 = 100 μ m.



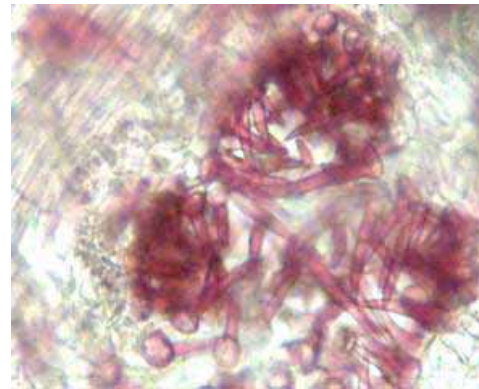
5



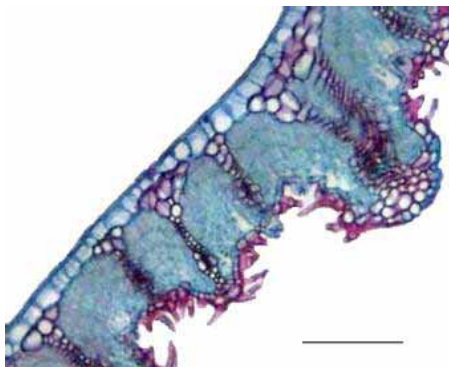
6



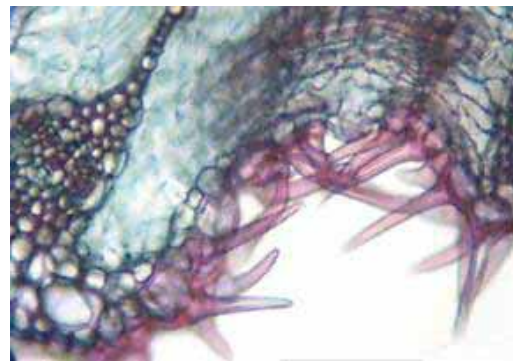
7



8



11



10

Figuras 5-10. Folha de *Vitex gardneriana* Schauer. 5. Porção mediana do pecíolo em vista transversal. 6. Secção transversal da nervura principal na porção mediana da lâmina foliar. 7. Vista frontal da epiderme adaxial. 8. Vista frontal da epiderme abaxial, mostrando depressões com pêlos. (setas). 9. Secção transversal da lâmina foliar mostrando nervuras com diferentes calibres. 10. Detalhe de tricomas em depressões (seta) na lâmina foliar. Barras: 5, 6 e 9 = 200 μ m; 7, 8 e 10 = 100 μ m.

2. FARMACOQUÍMICA

2.1. INTRODUÇÃO

Citações sobre *Vitex gardneriana* Schauer do ponto de vista farmacognóstico parece não existir na literatura. Entretanto, outras espécies de *Vitex* são bastante conhecidas quimicamente, destacando-se *V. agnus-castus* e *V. negundo* (ANEXO I).

A tabela 1 exibe o número de publicações de moléculas já isoladas e caracterizadas no gênero *Vitex*.

Tabela 1. Publicações farmacognósticas no gênero *Vitex*

| ESPÉCIE | ARTIGOS PUBLICADOS |
|---|--------------------|
| <i>V. agnus-castus</i> | 109 |
| <i>V. agnus-castus</i> var. <i>pseudo-negundo</i> | 2 |
| <i>V. agnus-castus</i> var. <i>rosea</i> | 33 |
| <i>V. altíssima</i> | 1 |
| <i>V. canescens</i> | 8 |
| <i>V. cannabifolia</i> | 6 |
| <i>V. cymosa</i> | 3 |
| <i>V. ferruginea</i> | 1 |
| <i>V. gardneriana</i> | 0 |
| <i>V. glabrata</i> | 5 |
| <i>V. leptobotrys</i> | 8 |
| <i>V. leucoxilon</i> | 3 |
| <i>V. limonifolia</i> | 6 |
| <i>V. lucens</i> | 15 |
| <i>V. macrophylla</i> | 2 |
| <i>V. madiensis</i> | 2 |
| <i>V. megapotamica</i> | 5 |
| <i>V. negundo</i> | 82 |
| <i>V. negundo</i> var. <i>cannabifolia</i> | 7 |
| <i>V. negundo</i> var. <i>heterophylla</i> | 6 |
| <i>V. peduncularis</i> | 7 |
| <i>V. pinnata</i> | 5 |
| <i>V. polygama</i> | 8 |
| <i>V. quinata</i> | 2 |
| <i>V. rotundifolia</i> | 19 |
| <i>V. strickeri</i> | 4 |
| <i>V. thyrsoflora</i> | 1 |
| <i>V. trifolia</i> | 22 |
| <i>V. trifolia</i> var. <i>simplicifolia</i> | 3 |

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. MATERIAL VEGETAL

Os materiais vegetais utilizados nos estudos farmacocômicos (folhas, cascas do caule e das raízes de *V. gardneriana* Schauer) foram coletados em agosto de 2002, no município de São José das Espinharas, Paraíba, sertão nordestino.

Após a coleta, parte do material foi destinada à preparação de exsicata, identificada pela Profa. Dra. Rita de Cássia Araújo Pereira e depositada sob o número 60308 no herbário Dárdano de Andrade Lima, da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA.

O restante do material foi conduzido ao Laboratório de Farmacognosia, do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco, onde foi submetido à secagem em estufa (45 °C), durante 10 horas, sendo posteriormente triturado e acondicionado em recipientes plásticos apropriados e assim conservado, enquanto não utilizado.

2.2.2. DROGAS E REAGENTES

- β - Amirina P.A. (MERCK)
- β - Sitosterol P.A. (MERCK)
- Acetato de etila P.A. (MERCK)
- Acetona P.A. (REAGEN)
- Ácido acético P.A. (MERCK)
- Ácido clorídrico P.A. (REAGEN)
- Ácido fórmico P.A. (MERCK)
- Ácido gálico P.A. (MERCK)
- Ácido sulfúrico P.A. (MERCK)
- Água destilada P.A. (MERCK)
- Anidrido acético P.A. (MERCK)
- Anisaldeído (FLUKA)
- Benzeno P.A. (MERCK)
- Butanol P.A. (MERCK)
- Cloreto de 2,3,5, trifeniltetrazólio P.A. (MERCK)
- Clorofórmio P.A. (MERCK)

- D (+) – glicose P.A. (MERCK)
- Difenil Boriloxietilamina P.A. (FLUKA)
- Éter P.A. (MERCK)
- Formol P.A. (MERCK)
- Glicose (MERCK)
- Ipolimida (de *Starchytapheta cayennensis* Cham.)
- Lapachol (LAFEPE);
- Metanol P.A. (MERCK);
- Saponina (MERCK)
- Tampão fosfato pH = 5 P.A. (MERCK);
- Tolueno P.A. (MERCK);
- Vanilina P.A. (CARLO ERBA);

2.2.3. EQUIPAMENTOS

- Balança eletrônica de precisão GEHAKA mod. BG 1000;
- Balança Semi-analítica FILIZOLA mod. p/ 5 Kg;
- Bomba de vácuo;
- Câmara fotográfica Ashai Pentax P – 50 e Nikon;
- Câmara Ultra-violeta (250 - 365 nm) CHOMATO VUE;
- Espectrofotômetro de ressonância BRUKER (DRX 500) ¹³C RMN (125 MHz);
- Espectrofotômetro de ressonância Varian Unity Plus 300 ¹³C RMN (75 MHz);
- Espectrofotômetro de ressonância BRUKER (DRX 500) ¹H RMN (500 MHz);
- Espectrofotômetro de ressonância Varian Unity Plus 300 ¹H RMN (300MHz);
- Espectrofotômetro de Massas JEOL JMS 600;
- Espectrofotômetro de Massas Finnigan GCR MAT Íon-traq;
- Espectrofotômetro de Ultravioleta, Perkin Elmer, Lambda 6;
- Espectrofotômetro de Infra-vermelho IFS 66;
- Estufa Precision Thelco Model 18;
- Multiprocessador ARNO;
- Rotavapor BUCHI INSTRUMENTS 5060 – CV.

2.2.4. OUTROS

- Borrifadores para revelação em CCD;
- Colunas cromatográficas;
- Cubas cromatográficas para CCD;
- Duolite S-861;
- Filmes fotográficos Kodak Gold Plus 100 e 400;
- Gel de sílica 70 – 230 Mesch MERCK;
- Placas cromatográficas MERCK Art. 015533;
- Sephadex LH-20, Pharmacia Chemicals;
- Tubos de ensaio.

2.2.5. ABORDAGEM FITOQUÍMICA DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER

Cerca de 3 g de cada parte do vegetal (folhas, cascas do caule e cascas das raízes) foram submetidas à infusão metanólica, durante 30 minutos e filtrados em papel, sendo posteriormente analisados por cromatografia em camada delgada, empregando-se diversos sistemas de desenvolvimento e reveladores apropriados (cf. Tabela 2), para a determinação de alcalóides, flavonóides, terpenóides, ácido gálico, fenilpropanoglicosídeos, cumarinas, proantocianidinas condensadas, leucoantocianidinas, taninos hidrolisáveis, açúcares redutores e quinonas.

Tabela 2. Metabólitos, sistemas de eluição, reveladores e referências bibliográficas utilizadas para a Abordagem fitoquímica de *Vitex gardneriana* Schauer.

| METABÓLITO | SISTEMA DE ELUIÇÃO | REVELADOR | REFERÊNCIA |
|---|---|-------------------------|--|
| Alcalóides | AcOEt – HCOOH – AcOH – H ₂ O (100 : 11 : 11 : 27 v/v) | Dragendorff | (WAGNER, 1996) |
| Monoterpenóides, Sesquiterpenóides e Diterpenóides | Benzeno – AcOEt (97 : 3 v/v) | Vanilina sulfúrica | (WAGNER, 1996) |
| Triterpenóides Esteróides | AcOEt – HCOOH – AcOH – H ₂ O (100 : 0,5 : 0,5 : 0,5 v/v) | Lieberman / Burchard | (HARBONE, 1982) |
| Iridóides | AcOEt – HCOOH – AcOH – H ₂ O (100 : 11 : 11 : 27 v/v) | Vanilina sulfúrica | (WAGNER, 1996) |
| Saponinas | AcOEt – HCOOH – AcOH – H ₂ O (100 : 11 : 11 : 27 v/v) | Anisaldeído | (WAGNER, 1996) |
| Açúcares | n-BuOH-Me ₂ CO-Tampão fosfato pH = 5,0 (40 : 50 : 10 v/v) | Trifeniltetrazólio | (METZ, 1961) |
| Cumarinas | Éter-tolueno-AcOH 10 % (50 : 50 : 50 v/v) | U.V. | (WAGNER, 1996) |
| Ácido Gálico | AcOEt – HCOOH – AcOH – H ₂ O (100 : 11 : 11 : 27 v/v) | NEU | (STIASY, 1912) |
| Flavonóides | AcOEt – Metiletilcetona – HCOOH – H ₂ O (100 : 60 : 10 : 10 v/v) | NEU | (MARKHAN, 1982) (NEU, 1956) |
| Fenilpropanoglicosídeos | AcOEt – HCOOH – AcOH – H ₂ O (100 : 11 : 11 : 27 v/v) | NEU | (WAGNER, 1996) |
| Proantocianidinas Condensadas Leucoantocianidinas | AcOEt – HCOOH – AcOH – H ₂ O (100 : 11 : 11 : 27 v/v) | Vanilina clorídrica | (ROBERTSON, 1955) |
| Taninos hidrolisáveis | AcOEt – Metiletilcetona – HCOOH – H ₂ O (100 : 60 : 10 : 10 v/v) | Alumen de ferro 1% | (XAVIER, 2001) (STIASY, 1912) |
| Quinonas | AcOEt – HCOOH – AcOH – H ₂ O (100 : 0,5 : 0,5 : 0,5 v/v) | KOH 10% | (HARBONE, 1998) |

2.2.6. PESQUISA DE ALCALÓIDES

Alíquotas dos extratos metanólicos das folhas (EMF), cascas do caule (EMC) e das raízes (EMR) de *V. gardneriana* Schauer, foram submetidas à cromatografia em camada delgada (CCD), empregando-se uma mistura de AcOEt – HCOOH – AcOH – H₂O (100 : 11 : 11 : 27 v/v), revelando-se em seguida com o reagente de Dragendorff. A presença de mancha de coloração alaranjada intensa foi usada como critério para acusar a existência de alcalóides.

2.2.7. PESQUISA DE MONOTERPENÓIDES, SESQUITERPENÓIDES E DITERPENÓIDES

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram submetidas à CCD, empregando-se uma mistura de Benzeno – AcOEt (97 : 3 v/v), revelando-se o cromatograma com vanilina sulfúrica e aquecimento com estufa (100 °C), por 5 minutos. O surgimento de manchas com coloração azul escura foi usado como critério de evidência da presença de monoterpenóides, sesquiterpenóides e diterpenóides, consoante os valores de R_f apresentados.

2.2.8. PESQUISA DE TRITERPENÓIDES E ESTERÓIDES

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram submetidas à co-cromatografia com β-amirina e β-sitosterol, empregando-se uma mistura de AcOEt – HCOOH – AcOH – H₂O (100 : 0,5 : 0,5 : 0,5 v/v), revelando-se com reagente Lieberman / Burchard, seguido de estufa (100 °C), por 5 minutos. Procedendo-se a visualização em câmara de U.V. (365 nm). O surgimento de manchas com coloração levemente rósea a avermelhada foi usado como critério de evidência da presença de triterpenóides e esteróides.

2.2.9. PESQUISA DE IRIDÓIDES

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram submetidas à co-cromatografia com ipolimida de *Starchytapheta cayennensis* Cham., empregando-se uma mistura de AcOEt – HCOOH – AcOH – H₂O (100 : 11 : 11 : 27 v/v), revelando-se com vanilina sulfúrica, seguida de estufa (100 °C), por 5 minutos. O surgimento de manchas com coloração roxa foi usado como critério de evidência da presença de iridóides.

2.2.10. PESQUISA DE SAPONINAS

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram submetidas à co-cromatografia com saponina padrão MERCK, empregando-se uma mistura de AcOEt – HCOOH – AcOH – H₂O (100 : 11 : 11 : 27 v/v), revelando-se com anisaldeído, seguida de estufa (100 °C), por 5 minutos. O surgimento de manchas com coloração verde escura foi usado como critério de evidência da presença de saponinas.

2.2.11. PESQUISA DE AÇÚCARES

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram submetidas à co-cromatografia com glicose, empregando-se uma mistura de n-BuOH-Me₂CO-Tampão fosfato pH = 5,0 (40 : 50 : 10 v/v), revelando-se com trifeniltetrazólio. O surgimento de manchas com coloração vermelha foi usado como critério de evidência da presença de açúcares.

2.2.12. PESQUISA DE CUMARINAS

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram submetidas à CCD, empregando-se uma mistura de Éter-tolueno-AcOH 10 % (50 : 50 : 50 v/v), em seguida, observando-se em câmara de U.V. (365 nm). Manchas de fluorescência azul foram usadas como critério de evidência da presença de cumarinas.

2.2.13. PESQUISA DE ÁCIDO GÁLICO

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram co-cromatografados com padrão de ácido gálico, através de CCD, empregando-se uma mistura de AcOEt – Metiletilcetona – HCOOH – H₂O (100 : 60 : 10 : 10 v/v). Manchas de fluorescência azul quando reveladas com NEU foram usadas como critério de evidência da presença de ácido gálico.

2.2.14. PESQUISA DE FLAVONÓIDES

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram submetidas à CCD, empregando-se uma mistura de AcOEt – Metiletilcetona – HCOOH – H₂O (100 : 60 : 10 : 10 v/v), revelando-se com reagente NEU, procedendo-se a observação em câmara de U.V. (365 nm). Manchas de fluorescência alaranjada, amarela ou verde foram usadas como critério de evidência da presença de flavonóides.

2.2.15. PESQUISA DE FENILPROPANOGLICOSÍDEOS

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram submetidas à CCD, empregando-se uma mistura de AcOEt – HCOOH – AcOH – H₂O (100 : 11 : 11 : 27 v/v), revelando-se com reagente NEU, procedendo-se a observação em câmara de U.V. (365 nm). Manchas de fluorescência verde foram usadas como critério de evidência da presença de fenilpropanoglicosídeos.

2.2.16. PESQUISA DE PROANTOCIANIDINAS CONDENSADAS E LEUCOANTOCIANIDINAS

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram submetidas foram submetidas à CCD, empregando-se uma mistura de AcOEt – HCOOH – AcOH – H₂O (100 : 11 : 11 : 27 v/v), A presença de coloração vermelha após revelação com vanilina clorídrica foi usada como critério determinante da existência de Proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas.

2.2.17. PESQUISA DE TANINOS HIDROLISÁVEIS

A presença de taninos hidrolisáveis foi investigada obedecendo a uma modificação do protocolo proposto por Stiasny (STIASNY, 1912), desenvolvida no laboratório de Farmacognosia, do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE (XAVIER, 2001).

Alíquotas de EMF, EMC e EMR (15 mL em solução a 10 % p/v), foram submetidas ao tratamento hidrolítico com 15 mL de formol e 5 mL de ácido clorídrico concentrado, refluxando-se sob agitação durante 30 minutos. Quando frio, os hidrolisados foram submetidos à filtração simples em papel, e os filtrados tornaram-se desprovidos de formol e ácido por passagem em coluna cromatográfica Duolite S-861, efetuando-se a lavagem com água destilada.

Os fenóis retidos na resina foram desadsorvidos com acetona e submetidos à co-cromatografia com ácido gálico, empregando-se uma mistura de AcOEt – Metiletilcetona – HCOOH – H₂O (100 : 60 : 10 : 10 v/v), e revelando-se primeiramente com NEU. Procedeu-se outra CCD, nas mesmas condições, porém revelando-se com Alumen de ferro a 1%. Manchas de fluorescência azul foram usadas como critério de evidência da presença de taninos hidrolisáveis.

2.2.18. PESQUISA DE QUINONAS

Alíquotas de EMF, EMC e EMR foram submetidos à co-cromatografia com lapachol, empregando-se uma mistura de AcOEt – HCOOH – AcOH – H₂O (100 : 0,5 : 0,5 : 0,5 v/v), revelando-se com solução de KOH a 10 %. Manchas de coloração vermelha no cromatograma foram usadas como critério de evidência da presença de quinonas.

2.2.19. ISOLAMENTO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS PRESENTES NAS CASCAS DO CAULE DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER.

3 g de EMC foram submetidos à cromatografia em coluna, utilizando Sephadex LH 20, como fase estacionária e metanol, como fase móvel. A eluição foi monitorada através de CCD, utilizando gel de sílica como fase estacionária e mistura de AcOEt – HCOOH – AcOH – H₂O (100 : 11 : 11 : 27 v/v), como fase móvel, revelando-se com vanilina clorídrica.

Foi observado por CCD, que as frações 11 a 18, correspondiam a uma substância de coloração marrom escura. Estas frações foram então reunidas, e após eliminação do solvente em rotavapor (30⁰C), recromatografadas em gel de sílica, utilizando uma mistura de AcOEt : MeOH (9 : 1 v/v), obtendo-se 160 frações de 15 mL. Sendo a eluição monitorada por CCD, utilizando a mistura de AcOEt – HCOOH – AcOH – H₂O (100 : 11 : 11 : 27 v/v), como fase móvel, empregando-se vanilina clorídrica como revelador.

As frações 98 até a 109 apresentavam, majoritariamente, uma molécula de coloração roxa, quando reveladas com vanilina clorídrica. Estas frações foram reunidas, submetidas à secagem à vácuo e recromatografadas numa coluna de gel de sílica, utilizando uma mistura de CHCl₃: MeOH (5 : 1 v/v), como fase móvel, obtendo-se estas moléculas a partir da fração 19 até a 60, ainda com impurezas. Estas frações foram reunidas, concentradas à vácuo, solubilizadas em metanol e mantidas em refrigerador para cristalizar. Após cristalização, realizou-se a lavagem do material com benzeno a frio, e em seguida, à quente. Obtendo-se, após secagem à vácuo, 40 mg da substância VA.

A partir da fração 121 até a fração 158 obteve-se grande quantidade de material cristalino contendo algumas impurezas, as quais foram retiradas após lavagem com acetato de etila, obtendo-se 400 mg da substância VB, as demais frações não apresentaram mais substâncias.

As moléculas estavam suficientemente puras (CCD) para a obtenção de espectros de infravermelho, ultravioleta, massas e ressonância magnética nuclear. Todos os programas usados para a determinação de espectros de ressonância magnética nuclear em 2 D, fazem parte da biblioteca de BRUKER.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. ABORDAGEM FITOQUÍMICA

Foi constatada a predominância de monoterpenóides, sesquiterpenóides, diterpenóides (cf. Figura 4) e fenilpropanoglicosídeos (cf. Figura 5) nas folhas, e em menor quantidade, nas cascas do caule e nas raízes.

Foi observada a presença de saponinas, β -amirina e β -sitosterol em todos os extratos (EMF, EMC e EMR), assim como outros triterpenóides e esteróides não identificados.

Flavonóides foram observados em todas as partes do vegetal, entretanto, nas folhas estas moléculas estavam em maior quantidade e apresentavam após revelação com reagente NEU, uma coloração fluorescente alaranjada (U.V. 365 nm), enquanto que nas cascas do caule e das raízes foram observados fenilpropanoglicosídeos apresentando manchas de fluorescência verde (cf. Figura 6).

Para a caracterização de iridóides, foi utilizada como padrão a ipolimida, iridóide presente no extrato metanólico das folhas de *Starchytapheta cayennensis* Cham. (cf. Figura 7).

Os extratos (EMF, EMC e EMR) não apresentaram alcalóides, cumarinas, ácido gálico, proantocianidinas condensadas, leucoantocianidinas, taninos hidrolisáveis e quinonas, nas condições utilizadas.

Os resultados fornecidos pela abordagem fitoquímica com os EMF, EMC e EMR podem ser observados no tabela 3.

Tabela 3. Metabólitos encontrados nas folhas, cascas do caule e das raízes de *Vitex gardneriana* Schauer.

| METABÓLITOS | EMF | EMC | EMR |
|---|-----|-----|-----|
| Alcalóides | - | - | - |
| Monoterpenóides, Sesquiterpenóides e Diterpenóides | + | + | + |
| Triterpenóides e Esteróides | + | + | + |
| Iridóides | + | + | + |
| Saponinas | + | + | + |
| Açúcares | + | + | + |
| Cumarinas | - | - | - |
| Ácido Gálico | - | - | - |
| Flavonóides | + | + | + |
| Fenilpropanoglicosídeos | + | + | + |
| Proantocianidinas Condensadas e Leucoantocianidinas | - | - | - |
| Taninos hidrolisáveis | - | - | - |
| Quinonas | - | - | - |

Expressão dos resultados: (+) = positivo e (-) = negativo. EMF = extrato metanólico das folhas, EMC = extrato metanólico das cascas do caule e EMR = extrato metanólico das cascas das raízes.

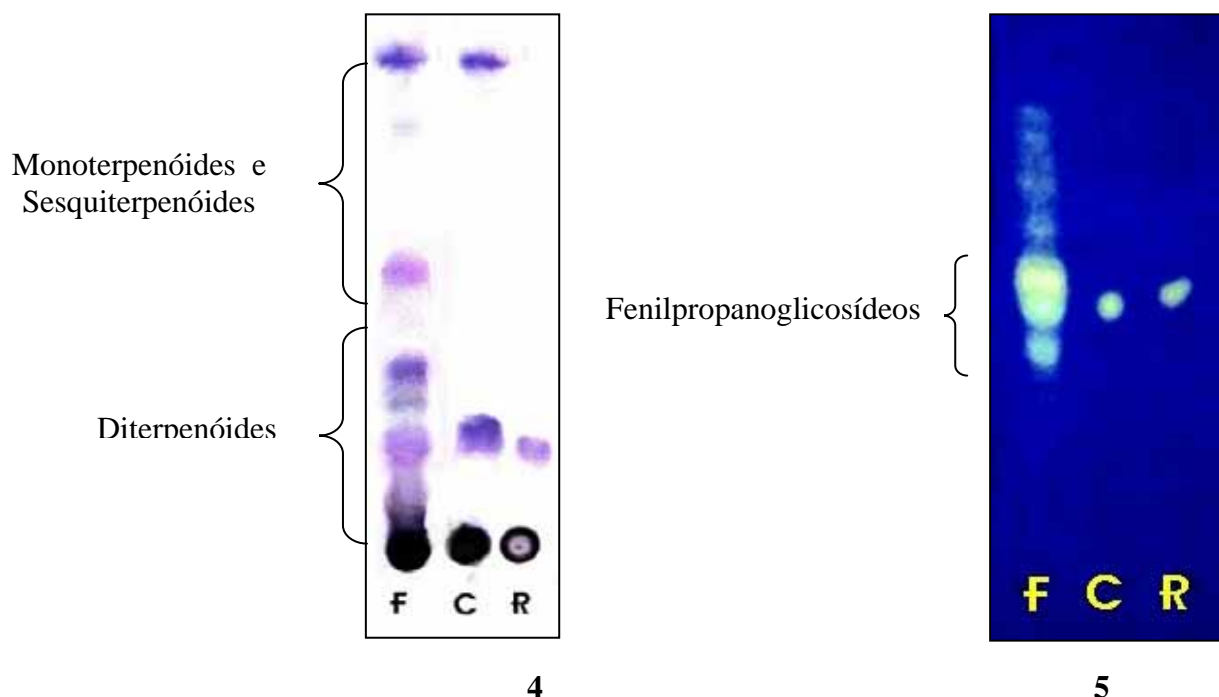


Figura 4-5. Abordagem fitoquímica. 4. Cromatograma de Monoterpenóides, Sesquiterpenóides e Diterpenóides. 5. Cromatograma de Fenilpropanoglicosídeos. F = Extrato metanólico das folhas de *V. gardneriana* Schauer, C = Extrato metanólico das cascas do caule de *V. gardneriana* Schauer e R = Extrato metanólico das cascas das raízes de *V. gardneriana* Schauer.

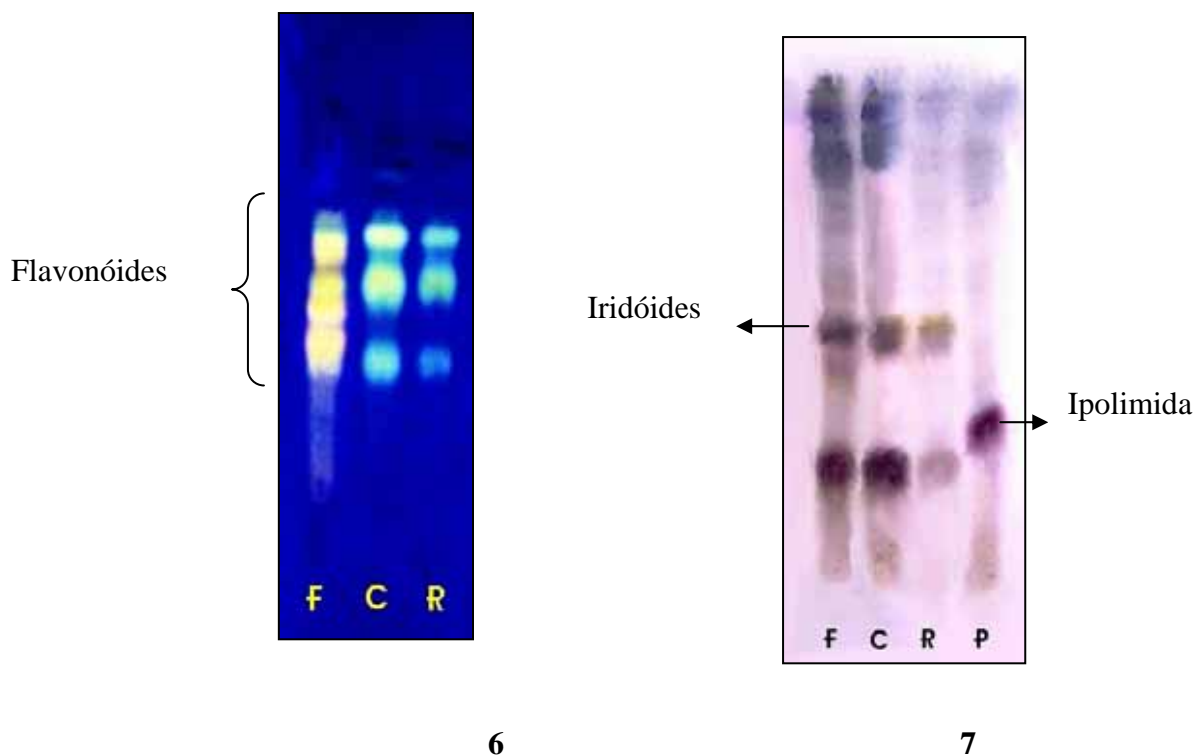


Figura 6-7. Abordagem fitoquímica. 6. Cromatograma de Flavonóides. 7. Cromatograma de Iridóides F = Extrato metanólico das folhas de *V. gardneriana* Schauer, C = Extrato metanólico das cascas do caule de *V. gardneriana* Schauer e R = Extrato metanólico das cascas das raízes de *V. gardneriana* Schauer. P = Ipolimida das folhas de *Starchytapheta cayennensis* Cham.

2.3.2. ANÁLISE ESPECTROMÉTRICA DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE EMC

2.3.2.1. Estrutura do Composto VA

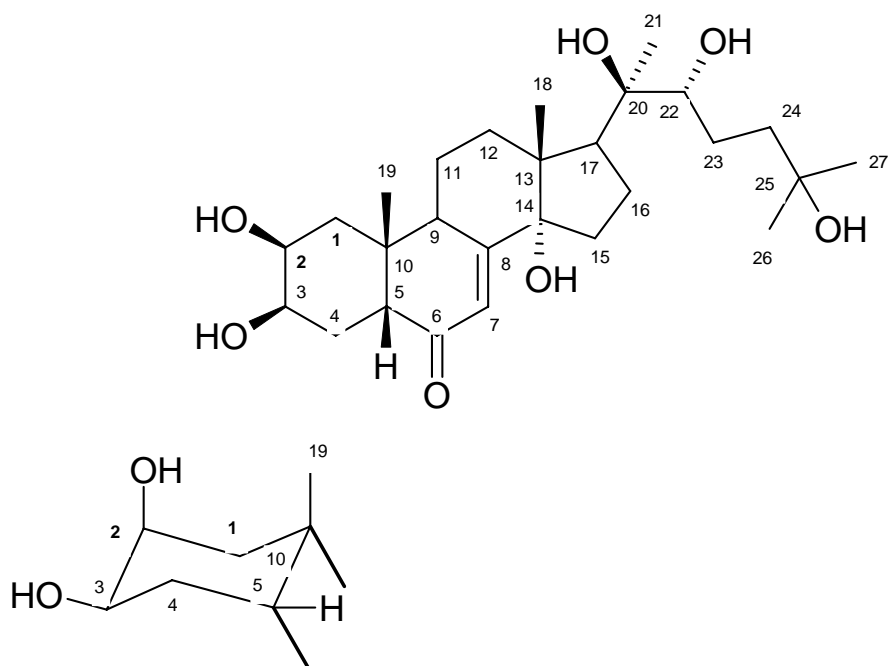
Nos espectros obtidos (cf. Tabela 4 e ANEXO II) evidenciamos que o composto VA trata-se de uma estrutura esteróide, pela presença de 27 átomos de carbono. Verificamos na análise do APT, a presença de 7 carbonos quaternários, 5 grupos metilas, 8 metilenos e 7 metinos. O espectro ^1H -RMN dissolvido em CD_3OD , permitiu verificar a presença de 38 prótons através das integrações observadas.

Baseando-se nos deslocamentos químicos deduzidos de sinais superpostos através dos espectros 2D ^1H - ^1H -COSY, ^1H - ^1H -NOESY, HMQC, HMBC e nos dados descritos por FATEN em 2003, podemos afirmar que o composto VA é a 20-hidroxi-ecdisona (cf. Figura 8), de fórmula molecular $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_7$ e Peso Molecular 480.

Tabela 4. Dados Espectroscópicos do Composto VA

| Composto VA | | | | |
|-----------------------|------------|------------------------------|---------------------|------------------------------|
| | δ_C | δ_H | $^2J_{CH}$ | $^3J_{CH}$ |
| C | | | | |
| 6 | 206.44 | - | H-5 | |
| 8 | 167.95 | - | H-9 | H-11a |
| 10 | 39.26 | - | 2H-1; H-9; 3H-19 | |
| 13 | 48.6 | - | | |
| 14 | 85.23 | - | H-15b | h-7; 3h-18 |
| 20 | 77.91 | - | H-22 | |
| 25 | 71.29 | - | | |
| CH | | | | |
| 2 | 68.70 | 3.83 (td, 11.8, 4.0) | | |
| 3 | 68.52 | 3.94 | 20-Hidroxi-ecdisona | |
| 5 | 51.78 | 2.37 (dd, 12.4, 4.3) | H-4a | 2h-1; h-3; h-7; 3h-19 |
| 7 | 122.13 | 5.79 (2, 2.4) | | h-9 |
| 9 | 35.10 | 3.14 (ddd) | | H-1b; H-5; H-7; H-12b; 3H-19 |
| 17 | 50.53 | 2.38 (m) | H-16b | H-12a; H-15b; 3H-18; 3H-21 |
| 22 | 78.42 | 3.31 (dd) | | 3H-21 |
| CH₂ | | | | |
| 1 | 37.37 | 1.80; 1.42 | | H-3 |
| 4 | 32.84 | 1.80; 1.68 | | |
| 11 | 21.50 | 1.80; 1.70 | H-9 | |
| 12 | 32.51 | 2.12 (dt, 13.2, 4.8) 1.87 | | H-17; 3H-18 |
| 15 | 31.77 | 1.95; 1.59 | | |
| 16 | 21.50 | 1.97; 1.78 | 2H-15; H-17 | |
| 23 | 27.34 | 1.67; 1.29 | H-22; 2H-24 | |
| 24 | 42.38 | 1.80; 1.43 | H-23a | H-22; 3H-26; 3H-27 |
| CH₃ | | | | |
| 18 | 18.04 | 0.88(s) | | H-12 ^a ; H-17 |
| 19 | 24.39 | 0.96(s) | | H-1b; H-9 |
| 21 | 21.05 | 1.19(s) | | H-22 |
| 26 | 29.69 | 1.18(s) ^a | | 3H-27 |
| 27 | 28.97 | 1.20 (s) ^a | | 3H-26 |

^a Valores podem ser trocados; (s) Sinais de átomos de hidrogênio sem indicação de multiplicidade correspondem a valores aproximados de deslocamentos químicos deduzidos de sinais superpostos através dos espectros 2D ¹H-¹H-COSY, ¹H-¹H-NOESY, HMQC e HMBC.

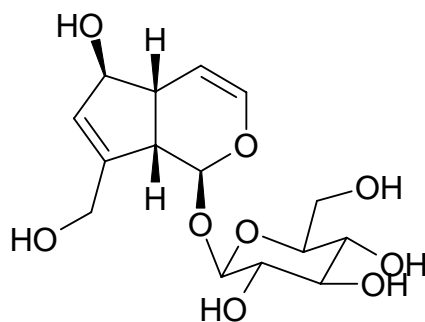


20-hidroxi-ecdisona

Figura 8. Estrutura do composto VA

2.3.2.2. Estrutura do Composto VB

Observando os espectros de ^{13}C -RMN (75 MHz, Varian Unity Plus 300), ^1H -RMN (300 MHz, Varian Unity Plus 300), HETCOR, DEPT, HMBC e massas (Finnigan GCR MAT Íon-traq), e comparando com os dados descritos por AKDEMIR em 1991, podemos verificar que a substância VB trata-se do iridóide glicosídeo, aucubina (cf. Figura 9) de Fórmula Molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_9$. Os dados espectrométricos estão reunidos na tabela 5 e os espectros podem ser observados nos ANEXO III. O padrão de fragmentação no espectro de massas deste composto pode ser observado na Figura 10.



aucubina

Figura 9. Estrutura do composto VB

Tabela 5. Dados Espectroscópicos do Composto VB
Composto VB

| | $^1\text{H}-^{13}\text{C-COSY}-^1\text{J}_{\text{CH}}$ | | $^1\text{H}-^{13}\text{C-COSY}-^n\text{J}_{\text{CH}}$ | |
|-----------------------|--|--------------------------------------|--|--------------------------|
| | δ_{C} | δ_{H} | $^2\text{J}_{\text{CH}}$ | $^3\text{J}_{\text{CH}}$ |
| C | | | | |
| 8 | 148 ^a | - | H-7; H-9; 2H-10 | |
| CH | | | | |
| 1 | 97.36 | 4.95 (d, 6.9) | H-9 | H-1'; H-3 |
| 3 | 141.21 | 6.31 (dd, 6.0; 1.8) | H-4 | H-1 |
| 4 | 105.48 | 5.09 (dd, 6.0; 3.9) | H-3 | |
| 5 | 45.77 | 2.65 (m) | | H-3; H-7 |
| 6 | 82.43 | 4.44 (m) | H-7 | H-9 |
| 7 | 129.90 | 5.76(m) | | H-9; 2H-10 |
| 9 | 47.56 | 2.89 (t, 7.5) | | H-4; H-7 |
| 1' | 99.55 | 4.68 (d, 8.1) | | H-1 |
| 2' | 74.51 | 3.20 | | |
| 3' | 77.46 | 3.38 (t, 9.3) | | |
| 4' | 71.14 | 3.24 | H-3' | |
| 5' | 77.84 | 3.24 | | |
| CH₂ | | | | |
| 10 | 61.03 | 4.34 (dt, 15.3; 1.5) 4.16 (md, 15.3) | | |
| 6' | 62.23 | 3.85 (dd, 12.0; 1.8) 3.64 (m) | | |

^a Valor correspondente a este sinal não descrito pelo computador. Espectros registrados em CD₃OD.

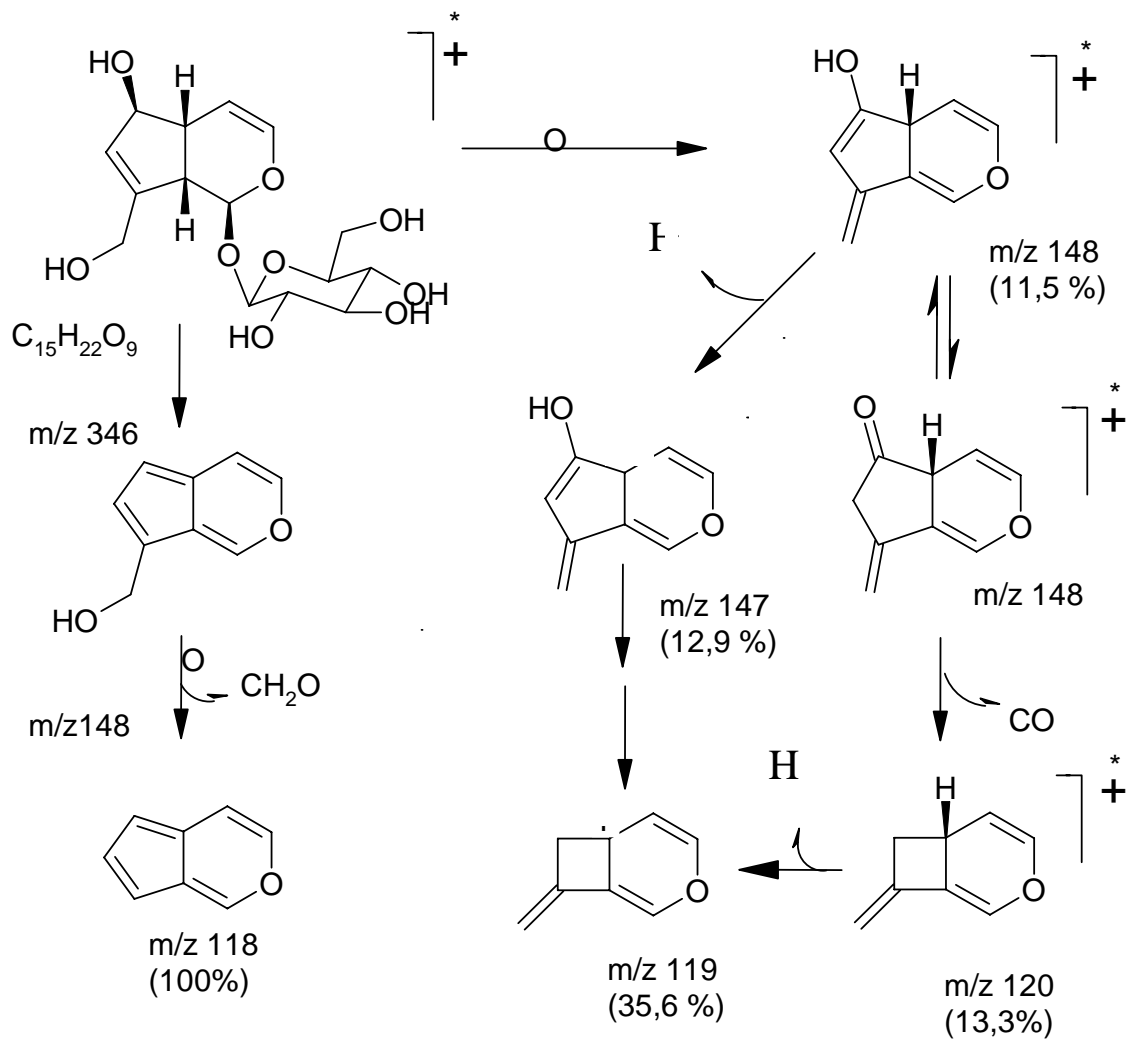


Figura 10. Padrão de fragmentação no espectro de massas de VB

**CAPÍTULO II: ATIVIDADE BIOLÓGICA
DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER**

CAPÍTULO II: ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER

1. INTRODUÇÃO

Segundo Gupta, o extrato metanólico das folhas de *V. negundo*, quando administrado em ratos albinos Swiss, mostrou significativa atividade depressora, dose-dependente, no SNC, nas dosagens 150, 200 e 300 mg/Kg. Contudo não potencializou a atividade hipnótica do pentobarbital, diazepam e cloprormazina, utilizadas como drogas padrões. Este extrato também promoveu diminuição do percentual de mortalidade, dose-dependente, em animais tratados com drogas convulsivantes, como a estricnina e pentilenotetrazol (GUPTA, 1999).

Dunstan, em 1997, avaliou a atividade anti-inflamatória, através da capacidade de inibição *in vitro* da cicloxigenase I, enzima que catalisa a biosíntese de prostaglandinas, de 46 plantas medicinais utilizadas popularmente no tratamento de doenças inflamatórias, dentre elas *Vitex trifolia* L. Os extratos etanólicos das cascas do caule e das folhas deste vegetal apresentaram 20 ± 4 e 2 ± 5 % de inibição da biosíntese de prostaglandinas, respectivamente, não sendo considerados estatisticamente significativos (DUNSTAN, 1997).

Em um estudo realizado em 1980, por Adewunmi e colaboradores, foi observado que os extratos das cascas do caule e das raízes de *Vitex oxycuspis* Bak., na concentração de 100 ppm, apresentaram um percentual de mortalidade bastante significativo frente aos caramujos adultos da espécie *Bulinus (Phyopsis) globosus*, 100 e 20 %, respectivamente (ADEWUNMI, 1980).

A atividade moluscicida também foi estudada, em 1990, utilizando 60 espécies de plantas, sendo três pertencentes à família *Verbenaceae*: *Lantana câmara*; *Lippia grandiflora* e *Vitex agnus-castus*. Os extratos de *L. câmara* e *L. grandiflora*, nas concentrações de 200 mg/L, quando testadas frente à *Biomphalaria truncatus*, apresentaram 20 e 40 % de mortalidade, respectivamente. Enquanto que o extrato de *V. agnus-castus* não apresentou um percentual de mortalidade considerado significativo (ABDEL-AZIZ, 1990).

Com relação à atividade antimicrobiana, em 1997, Valsaraj e colaboradores, observaram que os extratos etanólicos das cascas do caule e das folhas (80 % p/v) de *V. leucoxyton* Schau. e *V. negundo* L., respectivamente, não apresentaram atividade antifúngica frente a *C. albicans* e *Aspergillus niger*. Entretanto, o extrato de *V.*

leucoxylon apresentou pronunciada atividade antibacteriana, na dosagem de 25 mg/mL, frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*, e na dosagem de 12,5 mg/mL, frente a *Staphylococcus aureus*. Enquanto que na dosagem de 25 mg/mL, o extrato etanólico de *V. negundo*, mostrou-se ativo contra *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, e na dosagem de 6,25 mg/mL, contra *B. subtilis* (VALSARAJ *et al*, 1997).

Extratos das folhas de *V. trifolia*, utilizando etanol e éter de petróleo como solventes, nas dosagens 400 µg e 500 µg por disco, respectivamente, demonstraram moderada atividade frente a bactérias Gram-positivos (*Bacillus cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Sarcina lutea* e *S. aureus*) e Gram-negativos (*Aerohydrophylla sp.*, *E.coli*, *Salmonella typhi*, *Sa. Parathyphi A*, *Sa. Parathyphi B*, *Shigella boydii*, *Sh. Dysenteriae*, *Sh. Flexneri*, *Sh. sonnei*, *Klebsiella sp.*, *P. aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. mimicus*) (HOSSAIN *et al*, 2001).

Extratos etanólicos das partes aéreas de *V. heterophylla* (ABRAHAM *et al*, 1986) e *V. diversifolia* (BAHAKUNI *et al*, 1988), foram testadas frente a diversos microrganismos como, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. typhi*, *E. coli*, *Agrobacterium tumefaciens*, *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium canis* e *A. niger*, sem, contudo, demonstrar atividade inibitória.

Na tentativa de determinar as atividades farmacológicas de espécies de *Vitex*, inúmeros ensaios foram realizados, destacando-se atividade sobre o SNC, atividade analgésica, anti-inflamatória, moluscicida e antimicrobiana.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. SUBSTÂNCIAS TESTADAS

- Extrato metanólico seco das folhas de *V. gardneriana* Schauer (EMF);
- Extrato metanólico seco das cascas do caule de *V. gardneriana* Schauer (EMC);
- Solução salina 0,9 %;
- Solução de pentobarbital sódico;
- Indometacina;
- Carragenina (1 e 2%);
- Ácido acético 0,8 %;
- Água destilada;
- Solução de saponina padrão a 100 ppm;

- Água potável.

2.2. ANIMAIS

- Camundongos *Swiss* (*Mus musculus var. albinus*) de ambos os sexos;
- Ratos *Wistar* (*Rattus norvegicus*) machos;
- Desovas de *Biomphalaria glabrata*.

2.3. MICRORGANISMOS

- Cocos Gram positivos: *Micrococcus flavus* – DAUFPE (323) e *Staphylococcus aureus* – IC (133 e 138);
- Bacilo Gram negativo: *Proteus mirabilis* – IC (03);
- Fungos leveduriformes: *Candida albicans* – DAUFPE (1007) e *C. krusei* – DAUFPE (1002).

2.4. MATERIAL E EQUIPAMENTOS

- Alça de platina 0,01 mL;
- Autoclave (IBACLI);
- Balança Semi-analítica (GEHAKA BG 1000);
- Capela de fluxo laminar (TROX FLV 503);
- Cronômetro;
- Espátula;
- Estantes;
- Estufa bacteriológica (315 FANEM);
- Estufa de esterilização (FANEM);
- Forno de microondas (UM 515 z, SHARP);
- Hidropletismômetro (UGO Basile, Italy, modelo 7150);
- Lupa;
- Micro pipetas automáticas (GILSON-P 100, P1000);
- Pinça metálica;
- Pipetas graduadas 1, 5 e 10 mL;
- Placas de Petri para antibiogramas 130 mm de diâmetro por 25 mm de profundidade;
- Ponteiras 0,1 e 1 mL;
- Tubos de ensaio.

2.5. MEIOS DE CULTURA

- Meio sólido Mueller Hinton (Oxoid);
- Meio líquido Mueller Hinton (Oxoid);
- Meio sólido Saboraud (Oxoid) e
- Meio líquido Saboraud (Oxoid).

3. OBSERVAÇÃO DE ATIVIDADE GERAL E TOXICIDADE AGUDA DE EMF E EMC ADMINISTRADOS POR VIA ORAL E INTRAPERITONEAL

Para observação dos efeitos gerais e toxicidade aguda, por via oral (v.o.) e intraperitoneal (i.p.), de EMF e EMC, 10 grupos, cada um contendo 7 camundongos *Swiss (Mus musculus var. albinus)*, de ambos os sexos, com 3 meses de idade, mantidos em condições controladas de iluminação (ciclo 12 horas claro/escuro) e temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), receberam água *ad libitum* e ficaram privados de alimento por 12 h antes do experimento. Os animais foram tratados, com solução salina 0,9 % (p/v), e solução aquosa de EMF e EMC, nas dosagens 250, 500, 1000 e 2000 mg/Kg e observados atentamente por 4 h. Os efeitos, tais como: alterações na postura, motilidade, depressão, frequência respiratória, entre outros foram anotados segundo a tabela proposta por MALONE em 1977. Decorrido este período, os animais receberam ração e água à vontade, sendo observados 24 e 72 h.

4. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DEPRESSORA NO SNC DE EMC E EMF: POTENCIALIZAÇÃO DO SONO BARBITÚRICO

Seis grupos, cada um contendo 10 camundongos *Swiss (Mus musculus var. albinus)*, de ambos os sexos, mantidos em condições controladas de iluminação (ciclo 12 horas claro/escuro) e temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), receberam água *ad libitum*, privados de alimento por 12 h, foram tratados (v.o.), com solução salina a 0,9 % (p/v), solução aquosa de EMC (1000 mg/Kg) e (2000 mg/Kg). Após 1 h, foi administrada, solução de pentobarbital sódico (50 mg/Kg, i.p.) e contou-se o tempo de indução (T.I.) do sono dos animais, tempo decorrido entre a aplicação do barbitúrico e o sono, e o tempo de recuperação (T.R.), tempo decorrido desde o início do sono até o retorno a vigília (CARLINI, 1973).

5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-EDEMATOGÊNICA DE EMF E EMC: EDEMA DE PATA

Quatro grupos, cada um contendo 5 ratos albinos machos Wistar (*Rattus norvegicus*), mantidos em condições controladas de iluminação (ciclo 12 horas claro/escuro) e temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), receberam água *ad libitum*, privados de alimento por 12 h, foram tratados (v.o.), com solução salina a 0,9 % (p/v), indometacina (10 mg/Kg), solução aquosa de EMF e EMC (1000 mg/Kg). Após 30 minutos, o edema foi induzido por uma injeção subplantar de carragenina (0,1 mL a 2 % p/v) na pata direita traseira (WINTER et al, 1962). O volume das patas, direita e esquerda, foram medidos imediatamente após a injeção do agente flogístico (tempo zero) e 60 minutos após a indução do edema. Foram feitas 4 leituras em intervalos constantes de 1 hora. A medida do edema foi realizada usando um hidropletismômetro (UGO Basile, Italy, modelo 7150).

6. SEGUNDA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-EDEMATOGÊNICA DE EMF: EDEMA DE PATA

Foram utilizados três grupos, cada um contendo 5 ratos albinos machos Wistar (*Rattus norvegicus*), mantidos em jejum por 12 h, com água *ad libitum*. O edema foi induzido por uma injeção subplantar de carragenina (0,1 mL a 1%) na pata direita traseira (WINTER et al, 1962). O volume da pata direita foi medido antes e 30 minutos após (tempo zero) da injeção do agente flogístico. Em seguida, procedeu-se a administração (v.o.) nos grupos controle, padrão e teste com água destilada, indometacina (10 mg/Kg) e solução aquosa de EMF (1000 mg/Kg), respectivamente. As leituras foram feitas em intervalos constantes de 60 minutos durante 6 horas, utilizando um hidropletismômetro (UGO Basile, Italy, modelo 7150).

7. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DE EMF: CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO

Três grupos, cada um contendo seis camundongos Swiss (*Mus musculus var. albinus*), de ambos os sexos, mantidos em jejum por 12 h, com água *ad libitum*, foram tratados (v.o.) com água destilada, indometacina (10 mg/Kg) e solução aquosa de EMF (1000 mg/Kg). Após 30 minutos, administrou-se (v.o.) solução de ácido acético 0,8 % em água destilada (10 mL/Kg). Os animais foram colocados em campo aberto e o número de contorções da parede abdominal seguida de torções do tronco e extensão dos membros posteriores produzidas pela solução de ácido acético, avaliados (KOSTER et

al., 1959; VACHER et al., 1964). Os resultados foram expressos como o número de contorções abdominais acumuladas aos 30 minutos de observação.

8. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MOLUSCICIDA DE EMF, EMC E VB

Cinco grupos, contendo 10 desovas de *Biomphalaria glabrata* cada, foram tratados com água potável, solução aquosa de saponina padrão, EMF, EMC e VB (100 ppm). As desovas ficaram submersas durante 7 dias, sob condições controladas de temperatura e umidade. Após este período, realizou-se a contagem dos ovos não eclodidos, com o auxílio de lupa e espátula.

9. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EMF E EMC: DIFUSÃO EM MEIO SÓLIDO

A atividade antimicrobiana de EMF e EMC (20% p/v), foi avaliada pelo método de difusão em meio sólido (BAUER e KIRBY, 1966), baseado na inibição do crescimento de um microrganismo previamente semeado por esgotamento com swabs estéreis na superfície do meio de cultura em torno de um disco de papel de filtro, de 6 mm de diâmetro e peso de $30 \text{ mg} \pm 4 \text{ cm}^2$, impregnado com 20 μL dos extratos da droga.

Os microrganismos utilizados foram diluídos seguindo uma turbidez padrão equivalente ao 1 da escala de MacFarland, correspondente a 10^8 UFC/mL. Em seguida, estas suspensões foram diluídas de modo a obter um inóculo padronizado em 10^6 UFC/mL.

Foram empregados meios líquidos e sólidos de Mueller-Hinton, para bactérias e Saboraund, para leveduras.

As culturas foram inoculadas e incubadas a 37°C por 24 h. Após este período foi realizada a leitura dos diâmetros dos halos de inibição em torno dos discos, com auxílio de régua milimetrada. Sendo considerado como padrão de sensibilidade os halos de inibição iguais ou superiores a 10 mm.

10. RESULTADOS E DISCUSSÃO

10.1. OBSERVAÇÃO DA ATIVIDADE GERAL E TOXICIDADE AGUDA DE EMF E EMC ADMINISTRADOS POR VIA ORAL E INTRA-PERITONEAL

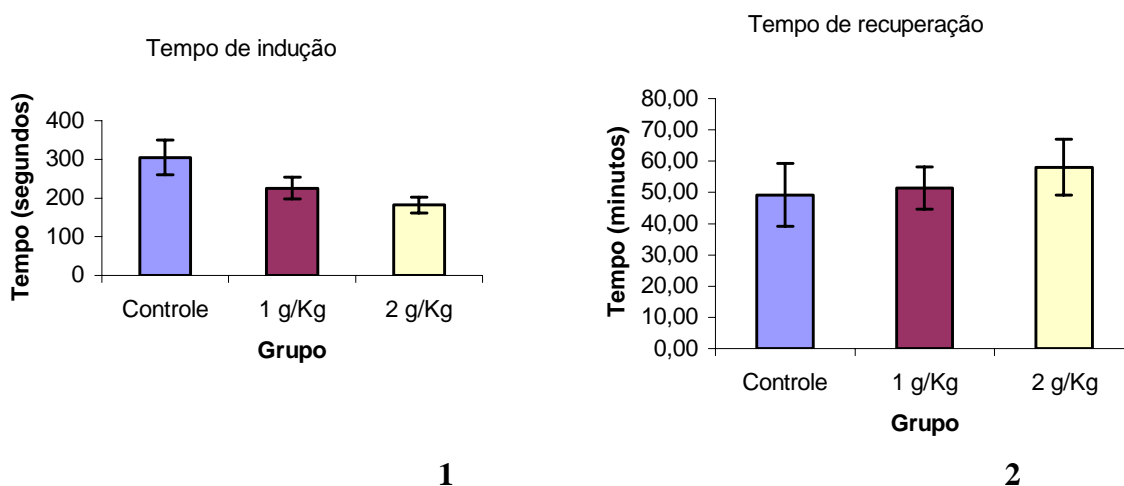
Os animais que receberam as maiores dosagens (1000 e 2000 mg/Kg) de EMF e EMC (v.o. e i.p.), apresentaram após 10 minutos, piloereção e movimentos estereotipados, como lambar as patas. E após 30 minutos todos os grupos tratados apresentaram diminuição da motilidade e sedação.

Decorrido o tempo de 72 h após a administração, não houve mortes em nenhum dos grupos tratados. Demonstrando assim, que os extratos EMF e EMC, na dosagem até 2 g/Kg, não apresentaram toxicidade para os animais. E assim, não sendo possível calcular a DL_{50} (dose que causa 50 % das mortes dos animais tratados).

10.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DEPRESSORA NO SNC DE EMC E EMF: POTENCIALIZAÇÃO DO SONO BARBITÚRICO

Na dosagem de 2000 mg/Kg de EMC, houve redução estatisticamente significativa do T.I. (cf. Gráfico 1). Enquanto que o tempo de recuperação (T.R.), nas dosagens de 1000 mg/Kg e 2000 mg/Kg, não foi estatisticamente significativa, nas condições experimentais usadas (cf. Gráfico 2). E assim foi possível observar que o EMC não apresentou atividade depressora no sistema nervoso central.

Os valores foram expressos como Médias \pm erro padrão das médias (cf. Tabela 6). Em seguida, as diferenças entre os grupos foram analisadas pelo teste “t” de Student e a significância estabelecida em 5 %.



Gráficos 1-2. Avaliação da atividade depressora no SNC de EMC 1000 mg/Kg e 2000 mg/Kg. 1 - Tempo de Indução. 2 - Tempo de Recuperação.

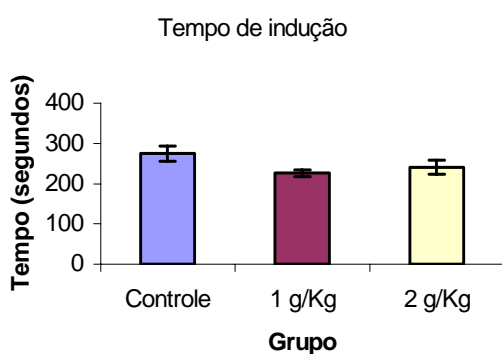
Tabela 6. Avaliação da Atividade Depressora no Sistema Nervoso Central do Extrato Metanólico das Cascas do Caule de *Vitex gardneriana* Schauer através do ensaio de Potencialização do Sono Barbitúrico.

| GRUPOS | T.I. (seg.) | | | T.R. (min.) | | |
|--------------|----------------|----------|-----------------|-------------|----------|----------|
| | SALINA | EMC | EMC | SALINA | EMC | EMC |
| | 0,9 % (p/v) | (1 g/kg) | (2 g/kg) | 0,9 % (p/v) | (1 g/Kg) | (2 g/Kg) |
| Média | ± 304,89 | ± 225,40 | ± 181,80 | ± 49,22 | ± 51,33 | ± 58,00 |
| ss | 44,53 | 27,94 | 12,93* | 10,10 | 6,78 | 8,95 |

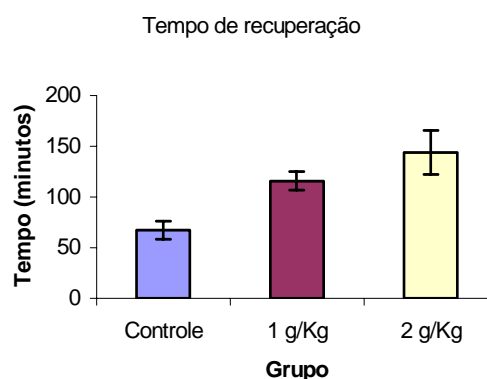
EMC = Extrato metanólico das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer; T.I. = Tempo de Indução; T.R. = Tempo de Recuperação e ss = erro padrão das médias.* = resultado significativo com $p < 0,05$

O EMF, nas dosagens de 1000 mg/Kg e 2000 mg/Kg, não foi capaz de reduzir com significância o T.I. (cf. Gráfico 3), mas aumentou o T.R. (cf. Gráfico 4). Apresentando assim, capacidade estatisticamente significativa de potencializar o sono barbitúrico, nas condições utilizadas. Também foi possível observar que o efeito de EMF não foi dose-dependente, visto que não houve diferença estatística entre as dosagens.

Os valores foram expressos como Médias \pm erro padrão das médias (cf. Tabela 7). Em seguida, as diferenças entre os grupos foram analisadas pelo teste “t” de Student, e a significância estabelecida em 5 %.



3



4

Gráficos 3-4. Avaliação da atividade depressora no SNC de EMF 1000 mg/Kg e 2000 mg/Kg. 3 - Tempo de Indução. 4 - Tempo de Recuperação.

Tabela 7. Avaliação da Atividade Depressora no Sistema Nervoso Central do Extrato Metanólico das Folhas de *Vitex gardneriana* Schauer através do ensaio de Potencialização do Sono Barbitúrico.

| GRUPOS | T.I. (seg.) | | | T.R. (min.) | | |
|------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|------------------|-------------------|
| | SALINA | EMF | EMF | SALINA | EMF | EMF |
| | 0,9 % (p/v) | (1000 mg/Kg) | (2000 mg/Kg) | 0,9 % (p/v) | (1000 mg/Kg) | (2000 mg/Kg) |
| Média ± ss | 274,70 ± 19,40 | 226,20 ± 8,15 | 240,70 ± 17,83 | ± 58,00 ± 8,95 | ± 115,80 ± 9,16* | ± 144,00 ± 21,76* |

EMF = Extrato metanólico das folhas de *Vitex gardneriana* Schauer; T.I. = Tempo de Indução; T.R. = Tempo de Recuperação e ss = erro padrão das médias.* = resultado significante com $p < 0,05$.

10.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-EDEMATOGÊNICA DE EMF E EMC: EDEMA DE PATA

Os resultados foram expressos através da determinação do volume do edema (mL), calculado pela subtração do aumento do volume da pata pelo volume basal (cf. Gráfico 5). Os valores foram expressos como Percentual Médio ± erro padrão das médias (cf. Tabela 8). Em seguida, as diferenças entre os grupos foram analisadas pelo teste “t” de Student e a significância estabelecida em 5 %.

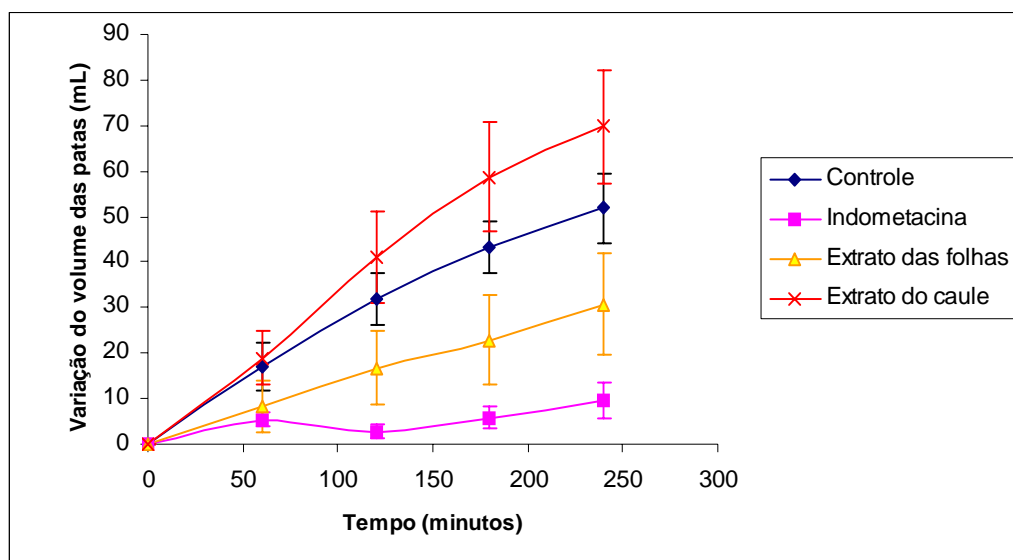


Gráfico 5. Avaliação da atividade anti-edematogênica dos EMF e EMC: edema de pata.

Tabela 8. Avaliação da Atividade Anti-edematogênica dos Folhas e das Cascas do Caule de *Vitex gardneriana* Schauer através do ensaio de Edema de Pata.

| Substâncias | Tempo (min.) | | | |
|------------------------------------|--------------|--------------|----------------------|---------------------------|
| | 60 | 120 | 180 | 240 |
| Salina 0,9 % | 17,00 ± 5,10 | 32,00 ± 5,71 | 43,4 ± 5,61 | 51,80 ± 7,81 |
| Indometacina (10 mg/Kg) | 3,80 ± 1,68 | 2,80 ± 1,50 | 5,75 ± 2,40 | 9,50 ± 3,87 |
| EMF (1000 mg/Kg) | 8,40 ± 5,60 | 20,75 ± 8,81 | 22,8 ± 9,80* | 30,80 ± 11,11* |
| EMC (1000 mg/Kg) | 19,00 ± 6,06 | 41,00 ± 9,90 | 58,6 ± 12,00* | 69,80 ±12,45* |

EMF = Extrato metanólico das folhas de *Vitex gardneriana* Schauer; EMC = Extrato metanólico das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer. * = resultado significativo com $p < 0,05$.

Após análise estatística, foi observado que EMF e EMC não apresentaram atividade anti-edematogênica estatisticamente significativa, quando comparados ao grupo controle, nas condições usadas. Entretanto, nos tempos 180 e 240 minutos os extratos apresentaram diferença significativa entre si.

Foi possível observar que o EMF possibilitou uma redução do edema nas patas dos animais, não sendo, entretanto, significativo.

10.4. SEGUNDA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-EDEMATOGÊNICA DE EMF: EDEMA DE PATA

Os resultados foram expressos através da determinação do volume do edema (mL), calculado pela subtração do aumento do volume da pata pelo volume basal. Os valores foram expressos como Média ± erro padrão das médias (cf. Tabela 9). Em seguida, as diferenças entre os grupos foram analisadas pelo teste “t” de Student, com a significância estabelecida em 5 %.

Tabela 9. Segunda avaliação da Atividade Anti-edematogênica das Folhas de *Vitex gardneriana* Schauer através do ensaio de Edema de Pata.

| Substâncias | Tempo (min.) | | | | | | |
|-------------------------|--------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|
| | 0 | 60 | 120 | 180 | 240 | 300 | 360 |
| Água destilada | 0,32 ± 0,02 | 0,37 ± 0,02 | 0,42 ± 0,02 | 0,41 ± 0,02 | 0,35 ± 0,01 | 0,26 ± 0,02 | 0,24 ± 0,03 |
| Indometacina (10 mg/Kg) | 0,23 ± 0,03 | 0,36 ± 0,04 | 0,35 ± 0,03 | 0,27 ± 0,04 | 0,19 ± 0,03 | 0,15 ± 0,03 | 0,13 ± 0,02 |
| EMF (1000 mg/Kg) | 0,23 ± 0,04 | 0,28 ± 0,01* | 0,24 ± 0,01* | 0,17 ± 0,02* | 0,14 ± 0,04* | 0,09 ± 0,04* | 0,11 ± 0,03 |

EMF = Extrato metanólico das folhas de *Vitex gardneriana* Schauer. * = resultado significativo com $p < 0,05$.

Com a realização de modificações na metodologia para a determinação da atividade anti-edematogênica, foi possível observar que o EMF administrado posteriormente ao agente flogístico conseguiu reduzir significativamente o edema induzido por solução de carragenina a 1%.

EMF (1000 mg/Kg) apresentou atividade anti-edematogênica estatisticamente significativa, entre os tempos 60 e 300 minutos, nas condições utilizadas (cf. Gráfico 6).

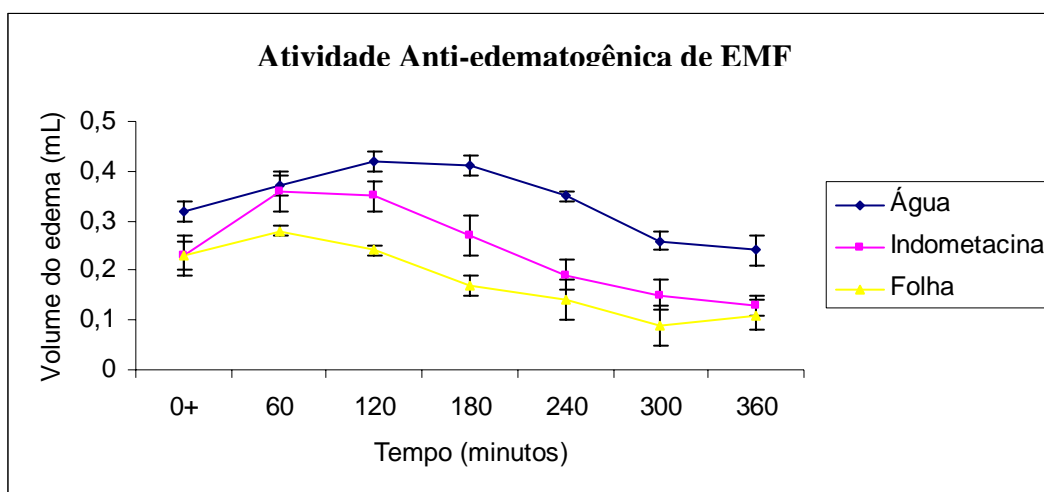


Gráfico 6. Segunda Avaliação da Atividade Anti-edematogênica de EMF 1000 mg/Kg.

10.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DE EMF: CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO

O EMF (1000 mg/Kg) apresentou significativa atividade antinociceptiva nas condições experimentais usadas (cf. Gráfico 7). Os valores foram expressos como Médias \pm erro padrão das médias (cf. Tabela 10). Em seguida, as diferenças entre os grupos foram analisadas pelo teste “t” de Student, com a significância estabelecida em 5 %.

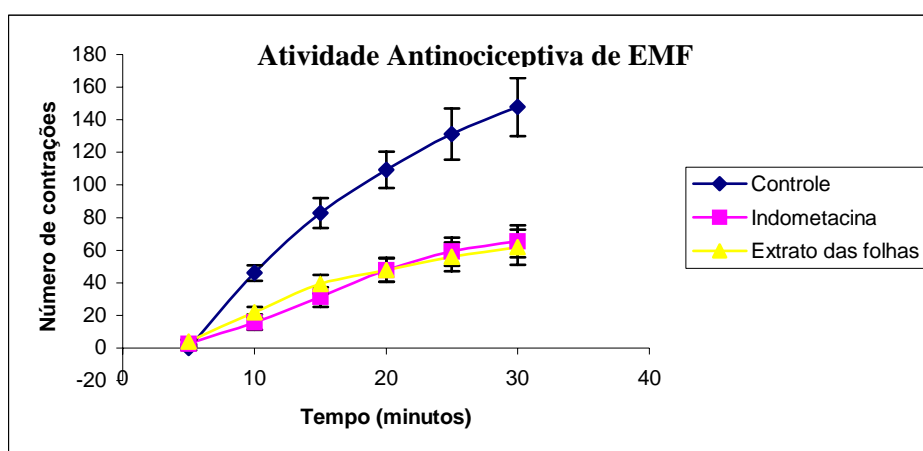


Gráfico 7. Avaliação da atividade antinociceptiva de EMF 1000 mg/Kg

Tabela 10. Avaliação da Atividade Antinociceptiva do Extrato Metanólico das Folhas de *Vitex gardneriana* Schauer.

| GRUPOS | ÁGUA | INDOMETACINA | EMF |
|----------------|--------------------|------------------|-------------------------------------|
| | DESTILADA | (10 mg/Kg) | (1000 mg/Kg) |
| MÉDIA \pm ss | 147,83 \pm 17,75 | 66,50 \pm 2,45 | 61,83 \pm 2,45* |

EMF = Extrato metanólico das folhas de *Vitex gardneriana* Schauer. ss = erro padrão. * = resultado significativo com $p < 0,05$.

10.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MOLUSCICIDA DE EMF, EMC E VB

As soluções aquosas de EMF, EMC e VB apresentaram atividade moluscicida, nas condições empregadas (cf. Gráfico 8). Os resultados foram expressos como total de ovos (número e percentual) e ovos não eclodidos (número e percentual) (cf. Tabela 11).

Nesta abordagem constatou-se que VB era o agente responsável por esta atividade.

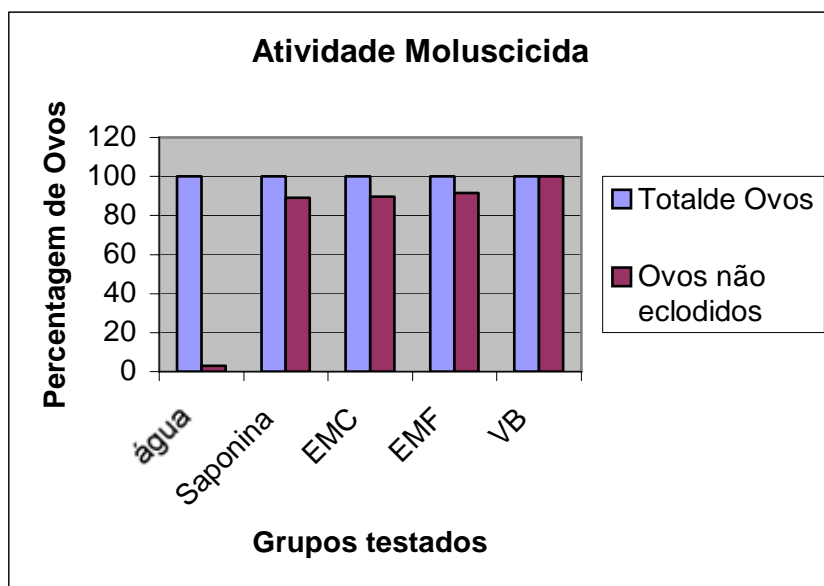


Gráfico 8. Avaliação da atividade moluscicida de EMF, EMC e VB

Tabela 11. Atividade Moluscicida de EMF, EMC e VB.

| Grupos | Total de ovos | Total de ovos (%) | Ovos não eclodidos | Ovos não eclodidos (%) |
|-------------------|---------------|-------------------|--------------------|------------------------|
| Água potável | 519 | 100 | 15 | 2,89 |
| Saponina (100ppm) | 416 | 100 | 371 | 89,20 |
| EMC (100ppm) | 346 | 100 | 310 | 89,59 |
| EMF (100ppm) | 336 | 100 | 308 | 91,66 |
| VB (100ppm) | 624 | 100 | 624 | 100,00 |

EMC = Extrato metanólico das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer. EMF = Extrato metanólico das folhas de *Vitex gardneriana* Schauer. VB = Molécula isolada das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer.

10.7. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EMF E EMC: DIFUSÃO EM MEIO SÓLIDO

EMF e EMC não apresentaram atividade inibitória frente aos microrganismos testados, pois não foram observados halos de inibição relevantes. Os resultados fornecidos com a avaliação da atividade antimicrobiana podem ser observados na tabela 12.

Tabela 12. Avaliação da Atividade Antimicrobiana dos Extratos Metanólicos de *Vitex gardneriana* Schauer através da Técnica de Difusão em Agar.

| Cepas | Halos de Inibição (mm) | |
|--|------------------------|-------------|
| | EMC 20% p/v | EMF 20% p/v |
| <i>Micrococcus flavus</i> – DAUFPE 323 | (-) | (-) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> – IC 133 | (-) | 8 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> – IC 138 | (-) | 7 |
| <i>Proteus mirabilis</i> – IC 03 | (-) | (-) |
| <i>Cândida albicans</i> – DAUFPE 1007 | (-) | (-) |
| <i>C. krusei</i> – DAUFPE 1002 | (-) | 8 |

Expressão dos resultados: (-) = ausência de inibição. EMC = extrato metanólico das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer. EMF = extrato metanólico das folhas de *Vitex gardneriana* Schauer. DAUFPE = Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. IC = Isolado Clínico.

3. CONCLUSÕES

Os estudos farmacognósticos e farmacológicos realizados propiciaram um maior conhecimento da espécie *Vitex gardneriana* Schauer, ainda pouco estudada.

O estudo farmacobotânico forneceu atributos diagnósticos para a espécie em estudo. O caule, em estrutura primária, mostrou-se revestido por epiderme simples com pêlos simples, 3-unisseriado; em estrutura secundária, apresentou periderme com súber composto por faixas de células colenquimatosas. O cilindro vascular do pecíolo apresentou arranjo vascular nodal multilacunar de anel com pequenos feixes inclusos de tamanhos variados, semelhante àquele encontrado nas nervuras foliares. A epiderme abaxial se caracterizou pela presença de inúmeras depressões contendo uma profusão de pêlos simples 3-unisseriados. Nestas depressões foram observados inúmeros estômatos com reduzidas câmaras subestomáticas. Quimicamente, foram observados como os constituintes majoritários presentes em ambas as partes do vegetal (folhas, cascas do caule e das raízes): flavonóides, iridóides, monoterpênóides, sesquiterpênóides, triterpênóides, esteróides, saponinas, açúcares e fenilpropanoglicosídeos. Sendo constatada a presença de β -amirina e β -sitosterol.

O extrato metanólico das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer forneceu um ecdisteróide, 20-hidroxi-ecdisona (VA) e um iridóide glicosídeo, aucubina (VB),

que foram caracterizados por bases químicas, estudos espectroscópicos e comparação com dados da literatura (FATEN, 2003; AKDEMIR, 1991). O esteróide foi relatado pela segunda vez na natureza, sendo descrito na família *Verbenaceae* pela primeira vez. O iridóide apresentou pronunciada atividade moluscicida, assim como os extratos metanólicos das folhas e cascas do caule (100 ppm). Esta substância, pela frequência como tem sido descrita em *Vitex* poderá vir a ser considerada como um marcador taxonômico (OKUYAMA, 1998; RAO, 1997; KOOIMAN, 1975; HANSEL, 1965).

A partir dos resultados da triagem farmacológica realizada com EMC e EMF, pode-se inferir que o vegetal em tela não apresenta toxicidade aguda. Foi observado que o EMF demonstrou atividade depressora no SNC, causando potencialização do sono barbitúrico. Esse extrato, também apresentou ação anti-edematogênica e antinociceptiva, corroborando a utilização popular (BRAGA, 1976).

O teste de atividade antimicrobiana foi realizado com o objetivo de atingir um amplo espectro de ação, utilizando bactérias Gram-positivos, Gram-negativos e fungos leveduriformes. Entretanto, os extratos metanólicos brutos das folhas e das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer não apresentaram halos de inibição relevantes, nas condições utilizadas. Esta falta de atividade antimicrobiana pode ter ocorrido por vários fatores, como a não difusão da droga no meio de cultura, a baixa concentração de moléculas ativas presentes nos extratos, antagonismo entre as substâncias contidas no mesmo ou pela utilização de cepas resistentes como *Staphylococcus aureus* (IC 133 e 138) e *Proteus mirabilis* (IC 03).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-AZIZ, A. & BRAIN, K., Screening of Sudanese Plants for Molluscicidal Activity and Identification of Leaves of *Tacca leontopetaloides* (L.) O Ktze (*Taccaceae*) as a Potencial New Exploitable Resource, *Phytoterapy Research*, v. 4, n^o2, p. 62-65, 1990.

ABRAHAM, Z., BHAKUNI, D.S., GARG, H.S., GOEL, A.K., MEROTRA, B.N. & PATNAIK, G.K., Screening of Indian Plants for Biological Activity: Part XII, *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 24, p. 48-68, 1986.

ADEWUNMI, C.O. & SOFOWORA, E.A., Preliminary Screening of some Plant Extracts for Molluscicidal Activity, *Planta Medica, Journal of Medicinal Plant Research*, v. 39, p. 57-65, 1980.

AKDEMIR, Z.; CALIS, I. & PETER JÚNIOR, Iridoid and Phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis condensate*, *Phytochemistry*, v. 30, n. 7, p. 2401-2402, 1991.

APHAIJTT,S: NIMIGIRAWATH,K: SUKSAMRARN,A: TOOPTAKONG,U., Isolation and Crystal Structure of Limonidilactone a Labdane Diterpene from *Vitex limonifolia*.: *Aust J Chem* v. 48. n. 1. p. 133-137, 1995.

ASAKA,Y: KAMIKAWA,T: KUBOTA,T., Constituents of *Vitex rotundifolia*: *Chem. Lett.*, p. 937-940,1973.

BAHAKUNI, D.S., DHAR, M.L., DHAWAN, B.N., GUPTA, B. & SRIMAL, R.C., Screening of Indian Plants for Biological Activity: Part III, *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 9, p. 91-102, 1971.

BAHAKUNI, D.S., GOEL, A.K., SUDHAJAIN, MEHROTRA, B.N., PATNAIK, G.K. & PRAKASH, V., Screening of Indian Plants for Biological Activity: Part XIII, *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 26, p. 883-904, 1988.

BANERJI,J: DAS,B: CHAKRABARTY,R: JHA,HC. Isolation of 4,4'-Dimethoxy-Trans-Stilbene and Flavonoids from Leaves and Twigs of *Vitex negundo* Linn.: *Indian J Chem* v. 27B. n. 6. p. 597-599. 1988.

BARBOSA,LC: DEMUNER,AJ: HOWARTH,OW: PEREIRA,NS: VELOSO,DP
Chemical Study of the Leaves of *Vitex polygama*: Fitoterapia v. 66. n. 3. p. 279-280.
1995.

BARROS, G.S.G., MATOS, F.J.A., VIEIRA, J.E.V., SOUZA, M.P. & MEDEIROS,
M.C., Pharmacological screening of some Brazilian Plants, J. Pharm. Pharmac., 1970, v.
22, p. 118 – 122.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M., Antibiotic Susceptibility Testing by a Standard Single
Disc Method, Am. J. Clin. Pathol., n. 45, p. 493, 1966.

BRAGA, R., Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará, 3 ed., v. 42, Coleção
Mossoroense, p. 297, 1976.

CAMBIE,R.C., The Extractives of *Vitex lucens* T. Kirk. 2. The Leaves and Bark.: N Z J
SCI v. 2. p. 230-236, 1959.

CARLINI, E.A. Farmacologia Prática sem aparelhagem, Ed. Savia, p. 186, 1973.

CHANDLER,R.F.: HOOPER,S.N. Friedelin and Associated Triterpenoids:
Phytochemistry. v. 18. p. 711-724. 1979.

CHAWLA, A.S., SHARMA, A.K., HANDA,S.S., DHAR, K.L., Chemical Investigation
and Antiinflammatory Activity of *Vitex Negundo* Seeds: Part I: Indian J Chem v. 30B.
n. 8. p. 773-776, 1991.

CHEN,YL: WANG,YS: KAO,BC: CHANG,YA Flavones in the Seeds of *Vitex
rotundifolia* Linn. F.: Chung-Kuo Nung Yeh Hua Hsueh Hui Chih v. 16. p. 99. 1978.

CHEN,ZF: FLI,YH: CHEN,XL. Study on Chemical Constituents of Essential Oil from
Vitex negundo Linn.: Xibei Zhiwu Xuebao v. 19. n. 2. p. 354-356. 1999.

CHOU,CH: YAO,C, Phytochemical Adaptation of Coastal Vegetation in Taiwan. I.
Isolation, Identification, and Biological Activities of Compounds in *Vitex negundo* L. :
Bot Bull Acad Sin. V. 24. n. 2. p. 155-168. 1983.

CHRISTOFEL,V: SPENGLER,B: JARRY,H: WUTTKE,W. Prolactin Inhibiting
Dopaminergic Activity of Diterpenes from *Vitex angus-castus*: Phytopharmaka V. p.
209-214. 1999.

- DAYRIT,FM: LAGURIN,LG. Identification of Four Iridoids in the Pharmacologically-Active Fraction of *Vitex negundo*, L.: Philippine J Sci v. 123. n. 4. p. 293-304. 1994.
- DAYRIT,FM: ROSARIO,GLM: CAGAMPANG,JV: LAGURIN,LG. Phytochemical Studies on the Leaves of *Vitex negundo*, L. ("Lagundi"). I. Investigations of the Bronchial Relaxing Constituents: Philipp J Sci v.116. n. 4. p. 403-410. 1987.
- DHAWAN, B.N., PATNAIK, G.K., RASTOGI, R.P., SINGH, K.K. & TANDON, J.S., Screening of Indian Plants for Biological Activity: Part VI, Indian Journal of Experimental Biology, v. 15, p. 208-219, 1977.
- DOPKE,W., Vitricine, a New Alkaloid from *Vitex trifolia* Linn.: Naturwissenschaften v.49. p. 375, 1962.
- DOS SANTOS,T.C.: MONACHE,F.D.: LEITAO,S.G. Ecdysteroids from Two Brazilian *Vitex* Species: Fitoterapia v. 72. n. 3. p. 215-220. 2001.
- DRAGENDORFF, G. Die Heilpflanzen Der Verschiedenen Volker Und Zeiten, F. Enke, Stuttgart. 885 pp. 1898
- DUNSTAN, C.A., NOREEN, Y. SERRANO, G., COX, P.A., PERERA, P. & BOHLIN, L., Evaluation of some Samoan and Peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rat ear edema assays, Journal of Ethnopharmacology, v. 57, p. 35-36, 1997.
- DUTTA,P: CHOWDHURY,US: CHAKRAVARTY,AK: ACHARI,B: PAKRASHI,C. Studies on Indian Medicinal Plants-Part LXXV. Nishindaside, A Novel Iridoid Glycoside from *Vitex negundo*: Tetrahedron v. 39. n. 19. p. 3067-3072. 1983.
- EKUNDAYA,O: LAAKSO,I: HOLOPAINEN,M: HILTUNEN,R: OGUNTIMEIN,B: KAUPPINEN,V, The Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Leaf Oil of *Vitex agnus-castus* L.: Journal of Essential oil Research v. 2. p. 115-119, 1990.
- EVANS,W.H.: MC GOOKIN,A: JURD,L: ROBERTSON,A: WILLIAMSON,W.R.N., Vitexin.Part I: J. Chem. Soc., p. 3510-3523, 1957.
- FANG,HJ: CHEN,LS: ZHOU,TH, Studies on the Components of Essential Oils. III Studies of Chemical Constituents of the Essential Oil from *Rhododendron racemosum*

Franch. (I). Comparison of the Constituents of *Vitex negundo* L. var. *cannabifolia* (Sieb. Et Zucc.) Hand-Mazz. (II): Yao Hsueh Hsueh Pao v. 15. p. 284-287, 1980.

FATEN, M.M.D. & MANFRED, G.R., Ecdysteroids and other constituents from *Sida spinosa* L., *Phytochemistry*, v. 62, p. 1179-1184, 2003.

FERDOUS, A.J.; JABBAR, A.; HASAN, C.M. Flavonoids from *Vitex negundo*: *J Bangladesh Acad Sci* v. 8. n. 2. p. 23-27. 1984.

GALLETTI, G.C.; RUSSO M.T. Essential Oil Composition of Leaves and Berries of *Vitex agnus-castus* L. from Calabria, Southern Italy: *Rapid Commun Mass Spectrom* v. 10. n. 11. p. 1345-1350. 1996.

GALLETTI, G.C.; RUSSO, M.T.; BOCCHINI, P. Pyrolysis Gas Chromatography Mass Spectrometry Used to Simultaneously Determine Essential Oil and Phenolic Compounds In The Monk' Pepper *Vitex agnus-castus* L.: *Rapid Commun Mass Spectrom* v. 9. n. 3. p. 1252-1260. 1995.

GOMAA, C.S.; EL-MOGHAZY, M.A.; HALIM, F.A.; EL-SAYYAD, A.E. Flavonoids and Iridoids from *Vitex agnus-castus*: *Planta Med* v. 33. p. 277. 1978.

GONCALVES, J.L.S.; LEITAO, S.G.; MONACHE, F.D.; MIRANDA, M.M.F.S.; SANTOS, M.G.M.; ROMANOS, M.T.V.; WIGG, M.D. In Vitro Antiviral Effect of Flavonoid-Rich Extracts of *Vitex polygama* (*Verbenaceae*) Against Acyclovir-Resistant Herpes Simplex Virus Type 1: *Phytomedicine* v. 8. n. 6. p. 477-480. 2001.

GORLER, K.; OEHLKE, D.; SOICKE, H. Iridoidführung Von *Vitex agnus-castus*: *Planta Med* v. 51. n. 6. p. 530-531. 1985.

GOTO, M.; NOGUCHI, T.; WATANABE, T.; ISHIKAWA, I.; KOMATSU, M. & ARAMAKI, Y. Uterus-Contracting Ingredients in Plants. *Takeda Kenkyusho Nempo* v. 16. p. 21. 1957.

GUPTA, M., MAZUMDER, U.K. & BHAWAL, S.R., CNS activity of *Vitex negundo* Linn. in mice, *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 37, p. 143 – 146, 1999.

HANSEL, R., LEUCKERT, C.H., RIMPLER, H., SCHAAF, K.D., Chemotaxonomic Investigation of the Genus *Vitex* L, *Phytochemistry*, v. 4. p. 19-27, 1965.

- HARBONE, J.B. Phytochemical methods, 3 ed., London: Chapman & Hall, 288p, 1998.
- HEBBALKAR,DS: HEBBALKAR,GD: SHARMA,RN: JOSHI,VS: BHAT,VS. Mosquito Repellent Activity of Oils from *Vitex negundo* Linn. Leaves: Indian J Med Res v. 95. n. 4. p. 200-203. 1992.
- HIROBE,C: QIAO,ZS: TAKEYA,K: ITOKAWA,H., Cytotoxic Flavonoids from *Vitex agnus-castus*.: Phytochemistry v. 46. n. 3. p. 521-524, 1997.
- HOBERG,E: MEIER,B: STICHER,O. Quantitative High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Diterpenoids in *Agni-casti fructus*: Planta Med v. 66. n. 4. p. 352-355. 2000.
- HOSSAIN, M.M., PAUL, N., SOHRAB, M.H., RAHMAN, E. & RASHID, M.A., Antibacterial activity of *Vitex trifolia*, Fitoterapia, v. 72, p. 695-697, 2001.
- IWAGAWA,T., NAKAHARA, A. & NAKATANI, M., Iridoids from *Vitex cannabifolia*, Phytochemistry. v. 32. n. 2. p. 453-454. 1993.
- KANG,SS: KIM,JS: KIM,HJ: JUNG,YR: SHIN,SW. Phytochemical Anlysis of *Viticis* Fructus: Korean J Pharmacog v. 25. n. 3. p. 214-220. 1994.
- KARTNIG,T.H. *Vitex agnus-castus* - Monchspfeffer or Keuschlamm. A Medicinal Plant With Indirect Luteotropic Activity: Z Phytother v. 7. p. 119-122. 1986.
- KO,WG: KANG,TH: LEE,SJ: KIM,YC: LEE,BH. Rotundifuran, a Labdane Type Diterpene from *Vitex rotundifolia*, Induces Apoptosis in Human Myeloid Leukaemia Cells: Phytother Res v. 15. n. 6. p. 535-537. 2001.
- KONDO,Y: SUGIYAMA,K: NOZOE,S. Studies on the Constituents of *Vitex rotundifolia* L.: Chem Pharm Bull v. 34. n. 11. p. 4829-4832. 1986.
- KOOIMAN,P. The Occurrence of Iridoid Glycosides in the *Verbenaceae*: Acta Bot Neerl v. 24. p. 459-468. 1975.
- KOSTER,R.; ANDERSON, M.; DE BERR, E.J., Acetic acid for analgesic screening, Fed. Proc., n. 18, p. 412, 1959.

KOUNO,I., INOUE, M., ONIZUKA,Y., FUJISAKI, T., KAWANO,N., Iridoid and Phenolic Glucoside from *Vitex rotundifolia*: *Phytochemistry*, v. 27. n. 2. p. 611-612, 1988.

KUBO,I., Recent Examples of Natural Products Isolation by Countercurrent Chromatographic Methods: *J Liq Chromatogr* , v.15. n. 15/16. p. 2843-2855, 1992.

KUBO,I: MATSUMOTO,A: AYAFOR,JF. Efficient Isolation of a Large Amount of 20-Hydroxyecdysone from *Vitex madiensis* (*Verbenaceae*) by Droplet Counter-Current Chromatography: *Agr Biol Chem* v. 48. n. 6. p. 1683-1684. 1984.

KUBO,I: MATSUMOTO,A: HANKE,FJ: AYAFOR,JF. Analytical Droplet Counter-Current Chromatography Isolation Of 20-Hydroxyecdysone from *Vitex thyrsoflora* (*Verbenaceae*): *J Chromatogr*. v. 321. n. 1. p. 246-248. 1985.

KUSTRAK,D: KUFTINEC,J: BLAZEVIC,N. Composition Of The Essential Oil Of *Vitex agnus-castus* L.: *J Essent Oil Res* v. 6. n. 4. p. 341-344. 1994.

LAAKSO,I: EKUNDAYO,O: OGUNTINMEIN,B: HILTUNEN,R. Essential Oil of *Vitex agnus-castus* L. (*Verbenaceae*): *Pharm Weekbl(Sci Ed)* v. 9. n. 4. p. 238. 1987.

LAUVALERT,C A Chemical Study on Some Thai Medicinal Plants: Thesis-Ms-(Organic Chem)-Mahidol Univ, 63 p., 1973.

LEITAO,SG: DELLE MONACHE,F., 2''-O-Caffeoylorientin from *Vitex polygama*: *Phytochemistry*, v. 49. n. 7. p. 2167-2169, 1998.

LI, S.H. Studies on the Chemical and Biological Constituents of Three Taxaceae Plants, *Vitex agnus-castus* and *Isodon xerophilus*: Dissertation-Ph.D.-Kunming Inst Botany,Chinese Academy Of Sciences. p. 122-143. 2001.

MAIA, A.C.C.M., SOARES, F.C.C., MARTINS Jr., H.B., BAPTISTA, E.R., *Vitex agnus castus*: Etnobotanical end Etnopharmacological Study, *Revista virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA*, v. 1, n^o 2, 2001.

MALE,Z: BLAZEVIC,N: ANTOLIC,A. The Essential Oil Composition of *Vitex angus-castus* var. *rosea* Leaves and Flowers: *Planta Med* v. 64. n. 3. p. 286-287. 1998.

MALLAVARAPU,GR: RAMESH,S: KAUL,PN: BHATTACHARYA,AK: RAO,BRR, Composition of the Essential Oil of the Leaves of *Vitex negundo*: Planta Med v. 60. n. 6. p. 583-584, 1994.

MALONE, R.A., Pharmacological aproache to natural products screening and avaliation. In: New Natural products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity, ed. By H. Warner and P. Wolf, Springer-Verlag, Berlin, p. 24-53, 1977.

MANALO,JB. A Study of Lagundi Oil: The Essential Oil from *Vitex negundo* Linn. Growing in the Philippines: Philippine J Sci v. 111. n. 3/4. p. 79-97. 1982.

MISHUROVA,SS: MALINOVSKAYA,TA: AKHMEDOV,IB: MAMEDOV,DG Essential Oil of *Vitex agnus-castus* L., Its Fractional Composition and Antimicrobial Activity: Rast Resur v. 22. n. 4. p. 526-530. 1986.

MIYAZAWA, M: SHIMAMURA,H: NAKAMURA,SI: KAMEOKA,H. Antimutagenic Activity of (+)-Polyalthic Acid from *Vitex rotundifolia*: J Agr Food Chem v.43. n. 12. p. 3012-3015. 1995.

MOUDACHIROU,M: AYEDOUN,MA: SOSSOU,PV: GARNEAU,FX: GAGNON,H: JEAN,FI. Chemical Composition of Leaf Oil of *Vitex agnus-castus* L. From Benin: J Essent Oil Res v. 10. n. 3. p. 343-344. 1998.

MUKHERJEE,KS: BADRUDDOZA,S Chemical Constituents of *Dillenia indica* Linn. and *Vitex negundo* LINN.: J INDIAN CHEM SOC v. 58. p. 97-98, 1981.

MURAKAMI,T: ITOKAWA,H: MATSUSHIMA,A: IKEKAWA,N., Constituents of the Root Bark of *Aralia elata* and of Beta-Sitosterol: Yakugaku Zasshi, v. 83. p. 427-431, 1963.

NAIR, A.G.R.: RAMESH,P.: SUBRAMANIAN,S.S. Two Unusual Flavones (Artemtin And 7-Desylartemetin) from the Leaves of *Vitex trifolia*: Curr Sci v. 44. p. 214. 1975.

NAPRALERT – NATURAL PRODUCTS ALERT. Chicago: Universidade de Illinois. <http://www.uic.edupharmacy/depts/PCRP/NAPRALERT.htm>. Consultado em 2002.

OKUYAMA,E: FUJIMORI,S: YAMAZAKI,M: DEYAMA,T., Pharmacologically Active Components of *Viticis Fructus (Vitex rotundifolia)*, the Components Having Analgesic Effects: Chem. Pharm. Bull. v. 46. n. 4. p. 655-662, 1998.

OKUYAMA,E: SUZUMURA,K: YAMAZAKI,M. Pharmacologically Active Components of *Viticis fructus (Vitex rotundifolia)*. I. the Components Having Vascular Relaxation Effects: Natural Med v. 52. n. 3. p. 218-225. 1998.

ONO,M: ITO,Y: KUBO,S: NOHARA,T., Two New Iridoids from *Viticis trifoliae* Fructus (Fruit of *Vitex rotundifolia* L.): Chem Pharm Bull. v. 45. n. 6. p. 1094-1096, 1997.

ONO,M: ITO,Y: NOHARA,T. Four New Halimane-Type Diterpenes, Vitetrifolins D-G, from the Fruit of *Vitex trifolia*: Chem Pharm Bull v. 49. n. 9. p. 1220-1222. 2001.

ONO,M: ITO,Y: NOHARA,T., A Labdane Diterpene Glycoside from Fruit of *Vitex rotundifolia*: Phytochemistry v. 48. n. 1. p. 207-209, 1998.

ONO,M: YAMOTO,M: MASUOKA,C: ITO,Y: YAMASHITA,M: NOHARA,T. Diterpenes from the Fruits of *Vitex rotundifolia*: J Nat Prod v. 62. n 11. p. 1532-1537. 1999.

PHANA DOUK, Medicinal Plants from Cambodia Especially Garcinia And *Vitex pubescens*.: Trav Lab Matiere Med Pharm Galenique Fac Pharm Paris, v. 50. 266 p., 1966.

PIYATIRATITIVORAKUL,P: PIYATIRATITIVORAKUL,S: DITSAYABOOT,P: THIENWICHA,W. Effects of Steroid Sapogenins on Growth and Molting of the Giant Freshwater Prawn *Macrobrachium Rosenbergii* (De Man): J Sci Soc. v. 22. n. 3. p. 227-236. 1996.

PLOWDEN, C.C., A Manual of Plant Name, George Allen and Unwin LTD, p. 80, 1968.

RAGASA,CY: MORALES,E: RIDEOUT,JA. Antimicrobial Compounds from *Vitex negundo*: Philipp J Sci v. 128. n. 1. p. 21-29. 1999.

RAMESH,P: NAIR,AGR: SUBRAMANIAN,SS. Flavone Glycosides Of *Vitex trifolia*: Fitoterapia v. 57. n. 4. p. 282-283. 1986.

- RAMIAH,N: NAIR,GA. Chemical Investigation of the Flowers of *Vitex pubescens* Vahl.: Bull Med Ethnobot Res v. 10. n. 1/2. p. 83-85. 1989.
- RAO,D.S., A Note on the Chemical Investigation of the *Vitex* Species: Naturwissenschaften v. 52. 262B, 1965.
- RAO,RVK: SATYANARAYAN,T: JENA,R. Phytochemical Studies on *Vitex leucoxylo* Linn.: Indian Drugs v. 34. n. 1. p. 50-51. 1997.
- RAO,UK: RAO,EV: RAO,DV. Phenolic Constituents of the Bark of *Vitex negundo*: Indian J Pharmacy v.39. p. 41. 1977.
- RIMPLER,H. Pterosterone, Polypodin B, and a New Ecdysone Steroid (Viticosterone E) from *Vitex megapotamica* (*Verbenaceae*): Tetrahedron Lett. p. 329. 1969.
- RIMPLER,H. Steroids With Ecdysone-Like Activity from *Vitex megapotamica*: Pharm-ZTG v.48. p. 1799. 1967.
- RIMPLER,H., Phytoecdysones and Iridoids from *Vitex megapotamica*: Arch Pharm. (Weinheim) v. 305. p. 746-761, 1972.
- SADEN-KREHULA,M: KUSTRAK,D: BLAZEVIC,N. Delta4-3-Ketosteroids in Flowers and Leaves of *Vitex agnus-castus*: Acta Pharm Jugosl v. 41. n. 3. p. 237-241. 1991.
- SAHU,NP: ROY,SK: MAHATO,SB, Triterpenoids and Flavonoids of *Vitex peduncularis*: PLANTA MED v. 50. n. 6. p. 527, 1984.
- SAKURAI,A: OKAMOTO,Y: KOKUBO,S: CHIDA,A. Abietane-Type Diterpenoids from the Fruit of *Vitex rotundifolia* L. Fil.: Nippon Nogei Kagaku Kaishi v. 3. p. 207-211. 1999.
- SEIKEL,M.K., CHOW,J.H.S., FELDMAN,L., The Glycoflavonoid Pigments of *Vitex lucens* Wood: Phytochemistry v. 5. p. 439-455, 1966.
- SEIKEL,MK: HOLDER,DJ: BIRZGALIS,R., The Flavonoid Constituents of *Vitex lucens*: Arch. Biochem. Biophys. v. 85. p. 272-295, 1959.
- SEIKEL,MK: MABRY,TJ .,A New Type of Glycoflavonoid from *Vitex lucens*: Tetrahedron Lett, p. 1105-1109, 1965.

- SENATORE, F: DELLA PORTA,G: REVERCHON,E., Constituents of *Vitex agnus-castus* L. Essential Oil.: Flavour Fragrance J v. 11. n. 3. p. 179-182, 1996.
- SHI,T: XU,G: GAO,Y: XU,C. Studies on the Inclusion Complex of Jing Tiao (*Vitex negundo* var. *heterophylla*) Oil With Beta-Cyclodextrin: Chung Ts'ao Yao. v. 15. n. 12. p. 537-539. 1984.
- SHIN,KH: KANG,SS: KIM,HJ: SHIN,SW. Isolation of an Aldose Reductase Inhibitor from the Fruits of *Vitex rotundifolia*: Phytomedicine v. 1. n. 2. p. 145-147. 1994.
- SINGH,V: DAYAL,R: BARTLEY,JP. Volatile Constituents of *Vitex negundo* Leaves: Planta Med v. 65. n. 6. p. 580-582. 1999.
- SIRAIT,M: LIEMTJWANHOO,F., Isolation of Agnuside from the Leaves of *Vitex trifolia*: Suara Pharm v. 9. n. 2. p. 47-51, 1966.
- SIRAIT,M: RIMPLER,H: HANSEL,R., Flavonoids from *Vitex agnus-castus* L., Experientia v. 18. p. 72, 1962.
- SORENSEN,JM: KATSIOTIS,ST. Parameters Influencing the Yield and Composition of the Essential Oil from Cretan *Vitex agnus-castus* Fruits: Planta Med v. 66. n. 3. p. 245-250. 2000.
- SUBRAMANIAN,PM: MISRA,GS, Flavonoids of *Vitex negundo* : J Nat Prod v. 42. n. 5. p. 540-542, 1979.
- SUKSAMRARN,A., SOMMECHAI,C., Ecdysteroids from *Vitex pinnata*, Phytochemistry, v. 32. n. 2. p. 303-306, 1993.
- SUKSAMRARN,A: APHAIJITT,S: BROPHY,JJ. The Volatile Leaf Oil of *Vitex limonifolia* Wall.: Flavour Fragrance J v. 5. n. 1. p. 53-55. 1990.
- SUKSAMRARN,A: PROMRANGSAN,N: CHITKUL,B: HOMBISASEVONGSA,S: SIRIKATE,A., Ecdysteroids of the Root Bark of *Vitex canescens*.: Phytochemistry. v. 45. n. 6. p. 1149-1152, 1997.
- SUKSAMRARN,A: PROMRANGSAN,N: JINTASIRIKUL,A. Highly Oxygenated Ecdysteroids from *Vitex canescens* Root Bark: Phytochemistry. v. 53. n. 8. p. 921-924. 2000.

SUKSAMRARN,A: SOMMECHAI,C: CHARULPONG,P: CHITKUI,B., Ecdysteroids from *Vitex canescens*, *Phytochemistry*. v. 38. n. 2. p. 473-476, 1995.

SUKSAMRARN,A: WERAWATTANAMETIN,K: BROPHY JJ. Variation of Essential Oil Constituents in *Vitex trifolia* Species: *Flavour Fragrance J.* v. 6. n. 1. p. 97-99. 1991.

SUKSAMRARN,A: YIGYONGNARONGKUL,BE: PROMRANGSAN,N. Naturally Occurring 20,26-Dihydroxyecdysone Exists as Two C-25 Epimers Which Exhibit Different Degrees of Moulting Hormone Activity: *Tetrahedron*. v. 54. n 48. p. 14565-14572. 1998.

SUKSAMRARN,S: KUMCHAROEN,S: SUKSAMRARN,A. Iridoids of *Vitex limonifolia*: *Planta Med.* v. 65. n. 4. p. 392. 1999.

TAGUCHI,H. Studies on the Constituents of *Vitex cannabifolia*: *Chem Pharm Bull.* v. 24. p. 1668. 1976.

TANEJA,SC: GUPTA,RK: DHAR,KL: ATAL,CK, The Essential Oil of *Vitex negundo* Linn. : *INDIAN PERFUM* v. 23. p. 162-163, 1979.

TAOUBI,K: FAUVEL,MT: GLEYS,J: FOURASTE,I. Caffeic Acid Heteroside Esters from *Verbenaceae*: *Bull Liaison Groupe Polyphenols.* v. 16. n. 1. p. 174-177. 1992.

THUY,TT: PROZEL,A: RIPPERGER,H: SUNG,TV: ADAM,G. Chalcones and Ecdysteroids from *Vitex leptobotrys*.:*Phytochemistry*. v. 49. n. 8. p. 2603-2605. 1998.

TRINH,TT: TRAN,VS: PORZE,A: RIPPERGER,H: ADAM,G. Study on Chemical Constituents of *Vitex leptobotrys*. I. the Ecdysteroids: *Tap Chi Hoa Hoc* v. 37. n. 1. p. 16-22. 1999.

VACHER, P.J.; DUCHÉNE-MARULLAZ, P.; BARBOT, P., A propos de quelques produits usuels – comparision de deux methods d'étude des analgésiques, *Med. Exp.*, n. 11, p. 51-58, 1964.

VALSARAJ, R., PUSHPANGADAN, P., SMITT, U.W., ADSERSEN, A. & NYMAN, U., Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India, *Journal of Ethnopharmacology*, v. 58 p. 75-83, 1997.

WERAWATTANAMETIN,K, The Chemical Constituents of the Bark of *Vitex glabrata* R.B. (*Verbenaceae*): Thesis-Master-Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand, 50 p., 1972.

WERAWATTANAMETIN,K., The Chemical Constituents of the Bark of *Vitex glabrata* R.Br.(*Verbenaceae*) and *Salix tetrasperma* Roxb. (*Salicaceae*): Thesis-Ms-(Organic Chem)-Mahidol Univ: p.50, 1972.

WERAWATTANAMETIN,K: PODIMUANG,V: SUKSAMRARN,A. Ecdysteroids from *Vitex glabrata*: J Nat Prod. v. 49. n. 2. p. 365-366. 1986.

WINTER, C. A.; RISHLEY, E.A.; NUSS, G.W., Carrageenan induced edema en hind paw as an assay for anti-inflammatory drugs. Proc. So. Exp. Biol. Med., v. 3, p. 544-547, 1962.

WOLLENWEBER,E: MANN,K. Flavonols from Fruits of *Vitex agnus-castus*: Planta Med v. 48. n. 2. p. 126-127. 1983.

YOU,KM: SON,KH: CHANG,HW: KANG,SS: KIM,HP. Vitexicarpin, A Flavonoid from the Fruits of *Vitex rotundifolia*, Inhibits Mouse Lymphocyte Proliferation and Growth of Cell Lines *in vitro*: Planta Med v. 64. n. 6. p. 546-550. 1998.

ZENG, X.Y.: FANG,Z.P.: WU,Y.Z.: ZHANG,H.D. Studies on the Chemical Constituents of the Fruits of *Vitex trifolia* L.: Zhongguo Zhongyao Zazhi. v. 21. n. 3. p. 167-168. 1996.

ZHANG, M.L., STOUT, M.J., KUBO, I., Isolation of Ecdysteroids from *Vitex strickeri* Using Rlcc and Recycling Hplc: Phytochemistry, v. 31. n. 1. p. 247-250, 1992.

ZWAVINA,JH: BOS,R , Composition of the Essential Fruit Oil of *Vitex agnus-castus*, Planta Medica, v. 62 , n.1, p. 83-84, 1996.

5. ANEXOS

5.1. ANEXO I: TABELA 13. EXEMPLOS DE MOLÉCULAS ISOLADAS E CARACTERIZADAS NO GÊNERO *VITEX*

ANEXO I

Tabela 13 . Exemplos de moléculas isoladas e caracterizadas no gênero *Vitex*.

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|-----------------|----------------------------|------------------|-----------------|---------------------|
| V. AGNUS-CASTUS | β -BOURBUNENO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | EKUNDAYA, 1990 |
| V. AGNUS-CASTUS | α -CURCUMENO | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | ABIETATRIENO | DITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | ACETATO DE BORNEOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | EKUNDAYA, 1990 |
| V. AGNUS-CASTUS | ACETATO DE GERANIOL | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | ACETATO DE LINALOL | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | ACETATO DE NEROL | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | FR | LI, 2001 |
| V. AGNUS-CASTUS | ALDEÍDO CINÂMICO | FENILPROPANÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | ANDROSTENEDIONA | ESTERÓIDE | F | SADEN-KREHULA, 1991 |
| V. AGNUS-CASTUS | ANETOL | FENILPROPANÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | AROMADENDRENO,ALLO: | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MOUDACHIROU, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS | ARTEMETINA | FLAVONOL | FR | HIROBE, 1997 |
| V. AGNUS-CASTUS | ARTEMISOL | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | ASCARIDOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | EKUNDAYA, 1990 |
| V. AGNUS-CASTUS | AUCUBINA | IRIDÓIDE | C | HANSEL, 1965 |
| V. AGNUS-CASTUS | AUCUBINA | IRIDÓIDE | FR | KOOIMAN, 1975 |
| V. AGNUS-CASTUS | BICYCLOGERMACRENO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MOUDACHIROU, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS | BISABOLOL, α : EPI: | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | BISABOLOL, β : EPI: | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CADINA-5-10(15)-DIEN-4-OL | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CADINENO, γ : | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | GALLETTI, 1995 |
| V. AGNUS-CASTUS | CADINENO, δ | SESQUITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-------------------|
| V. AGNUS-CASTUS | CADINOL, α | SESQUITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CADINOL, δ | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CADINOL,T: | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MOUDACHIROU, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS | CANFENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | EKUNDAYA, 1990 |
| V. AGNUS-CASTUS | CÂNFORA | MONOTERPENÓIDE | OEF | KUSTRAK, 1994 |
| V. AGNUS-CASTUS | CAR-3-ENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CARIOFILENO | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | GALLETTI, 1995 |
| V. AGNUS-CASTUS | CARIOFILENO OXIDE | SESQUITERPENÓIDE | OEF | LAAKSO, 1987 |
| V. AGNUS-CASTUS | CARIOFILENO,BETA: | SESQUITERPENÓIDE | OEF | LAAKSO, 1987 |
| V. AGNUS-CASTUS | CARVEOL,CIS: | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CARVONA,CIS-DIHIDRO: | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CARVONA,TRANS-DIHIDRO: | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CASTICIN A | FLAVONOL | FR | KARTNIG, 1986 |
| V. AGNUS-CASTUS | CAURENE | DITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CEDRANE-8(S)-14-DIOL | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CINAROSIDEO | FLAVONA | F | LI, 2001 |
| V. AGNUS-CASTUS | CINEOL,1-8: | MONOTERPENÓIDE | OEFR | MISHUROVA, 1986 |
| V. AGNUS-CASTUS | CITRONELOL | MONOTERPENÓIDE | OEFR | GALLETTI, 1995 |
| V. AGNUS-CASTUS | CITRONELOL | MONOTERPENÓIDE | OEFR | GALLETTI, 1995 |
| V. AGNUS-CASTUS | CRISOSPLENETINA | FLAVONOL | FR | HIROBE, 1997 |
| V. AGNUS-CASTUS | CUMINALDEÍDO | MONOTERPENÓIDE | OEF | GALLETTI, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | CUPARENO | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | ELEMENO, δ | SESQUITERPENÓIDE | OEF | EKUNDAYA, 1990 |
| V. AGNUS-CASTUS | EUGENOL | FENILPROPANÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | EUROSTOSIDEO | IRIDÓIDE | F | GORLER, 1985 |
| V. AGNUS-CASTUS | FARNESENO, β | SESQUITERPENÓIDE | OEF | GALLETTI, 1996 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|-----------------|--|------------------|-----------------|-------------------|
| V. AGNUS-CASTUS | FELANDRENO, β | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | FELANDRENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | MOUDACHIROU, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS | FILOCLADENO | DITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | FLAVONA, 5-HIDROXI-3-4'-6-7-TETRAMETIL | FLAVONOL | FR | LI, 2001 |
| V. AGNUS-CASTUS | GERAMACRENO D | SESQUITERPENÓIDE | OEF | EKUNDAYA, 1990 |
| V. AGNUS-CASTUS | GERANIAL | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | GERMACRENO B | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | GALLETTI, 1995 |
| V. AGNUS-CASTUS | GLOBULOL | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | GALLETTI, 1995 |
| V. AGNUS-CASTUS | GUAIEENO, α | SESQUITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | GUAIOL | SESQUITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | GURJUNENE, β | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | GURJUNENE, γ | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | GURJUNENO, α | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | HUMULENO, α | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | LIMONENO | MONOTERPENÓIDE | OEFR | MISHUROVA, 1986 |
| V. AGNUS-CASTUS | LINALOL | MONOTERPENÓIDE | OEFR | GALLETTI, 1995 |
| V. AGNUS-CASTUS | LONGIFOLENO | SESQUITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | LUTEOLINA | FLAVONA | FR | HIROBE, 1997 |
| V. AGNUS-CASTUS | MANOL | DITERPENÓIDE | OEFR | GALLETTI, 1995 |
| V. AGNUS-CASTUS | MENTOL | MONOTERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | MIRCENO | MONOTERPENÓIDE | OEFR | GALLETTI, 1995 |
| V. AGNUS-CASTUS | MIRCENO, β | MONOTERPENÓIDE | OEFR | SORENSEN, 2000 |
| V. AGNUS-CASTUS | MUROLENO, α | SESQUITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | MUROLENO, γ | SESQUITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | NEROL | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|-----------------|--------------------------------------|------------------|-----------------|---------------------|
| V. AGNUS-CASTUS | NEROLIDOL | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | NEROLIDOL,CIS | SESQUITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | OCIMENO, β : CIS | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | OCIMENO, β : TRANS | MONOTERPENÓIDE | OEF | MOUDACHIROU, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS | ORIENTINA E | FLAVON | F | GOMAA, 1978 |
| V. AGNUS-CASTUS | ORTO -CIMOL, | MONOTERPENÓIDE | OEF | MISHUROVA, 1986 |
| V. AGNUS-CASTUS | PARA - CIMEN-8-OL, | MONOTERPENÓIDE | OEF | EKUNDAYA, 1990 |
| V. AGNUS-CASTUS | PARA -CIMENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | EKUNDAYA, 1990 |
| V. AGNUS-CASTUS | PENDULETINA | FLAVONOL | FR | KARTNIG, 1986 |
| V. AGNUS-CASTUS | PINENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | LAAKSO, 1987 |
| V. AGNUS-CASTUS | PINENO, β | MONOTERPENÓIDE | OEFR | SORENSEN, 2000 |
| V. AGNUS-CASTUS | PINOCARVEOL,TRANS | MONOTERPENÓIDE | OEF | GALLETTI, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | PIPERITOL,CIS | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | PIPERITOL,TRANS | MONOTERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | PIPERITONA | MONOTERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | PROGESTERONA | ESTERÓIDE | F | SADEN-KREHULA, 1991 |
| V. AGNUS-CASTUS | PROPIONALDEIDO,2-FENIL | FENILPROPANOÍDE | OEF | GALLETTI, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | QUEMPFEROL,6-HIDROXI: 3-4'-6-7-TETRA | FLAVONOL | FR | WOLLENWEBER, 1983 |
| V. AGNUS-CASTUS | ROTUNDIFURANO | DITERPENÓIDE | FR | HOBERG, 2000 |
| V. AGNUS-CASTUS | SABINENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | LAAKSO, 1987 |
| V. AGNUS-CASTUS | SANTALOL, α | SESQUITERPENÓIDE | OEF | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | SCLAREOL | DITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | SELINENO, β | SESQUITERPENÓIDE | OEFL | SENATORE, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | SESQUIHELLANDRENE, β | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | SITOSTEROL, β | ESTERÓIDE | FR | LI, 2001 |

| ESPÉCIE | | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|-----------------------------------|------|-----------------------|------------------|-----------------|---------------------|
| V. AGNUS-CASTUS | | SPATULENOL | SESQUITERPENÓIDE | FR | LI, 2001 |
| V. AGNUS-CASTUS | | TERPINEN-4-OL | MONOTERPENÓIDE | OEF | LAAKSO, 1987 |
| V. AGNUS-CASTUS | | TERPINEN-4-OL ACETATO | MONOTERPENÓIDE | OEF | MOUDACHIROU, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS | | TERPINENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEFR | GALLETTI, 1995 |
| V. AGNUS-CASTUS | | TESTOSTERONA | ESTERÓIDE | FL | SADEN-KREHULA, 1991 |
| V. AGNUS-CASTUS | | TIMOL | MONOTERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | | TUJENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | MOUDACHIROU, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS | | VERBASCOSIDEO | FENILPROPANÓIDE | F | TAOUBI, 1992 |
| V. AGNUS-CASTUS | | VIRIDIFLOROL | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS | | ZINGIBERENO, α | SESQUITERPENÓIDE | OEFR | ZWAVINA, 1996 |
| V. AGNUS-CASTUS PSEUDO-NEGUNDO | VAR. | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | S | KOOIMAN, 1975 |
| V. AGNUS-CASTUS PSEUDO-NEGUNDO | VAR. | AUCUBINA | IRIDÓIDE | S | KOOIMAN, 1975 |
| V. AGNUS-CASTUS ROSEA | VAR. | AROMADENDRENO,ALLO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS ROSEA | VAR. | BORNEOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS ROSEA | VAR. | CÂNFORA | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS ROSEA | VAR. | CARIOFILENO OXIDE | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS ROSEA | VAR. | CARIOFILENO,BETA | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. AGNUS-CASTUS ROSEA | VAR. | CINEOL,1-8 | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |

| ESPÉCIE | | | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|----------|--------------|------|---------------------|------------------|-----------------|------------|
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | CUPARENO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | GLOBULOL | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | GURJUNENE, α | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | GURJUNENO, β | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | HUMULENO, α | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | LEDOL | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | LIMONENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | LINALOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | MIRCENO, β | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | MUUROLENE, γ | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | NEROLIDOL | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | PARA -CIMENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | PINENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |

| ESPÉCIE | | | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|----------|--------------|------|-----------------------------|------------------|-----------------|------------|
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | PINENO, β | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | SABINENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | SCLAREOL | DITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | SESQUIFELANDRENO, β | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | SPATULENOL | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | TERPINEN-4-OL | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | TERPINEOL, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | TERPINEOL,D | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | TERPINOLENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | TUJENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | TUJONO, β | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | VIRIDOFLOROL | SESQUITERPENÓIDE | OEFL | MALE, 1998 |
| V. ROSEA | AGNUS-CASTUS | VAR. | BERGAMOTENO, α : CIS | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|----------------------------|--|--------------------|-----------------|------------------|
| V. AGNUS-CASTUS VAR. ROSEA | CADINOL,T | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALE, 1998 |
| V. ALTISSIMA | VERBASCOSIDEO | FENILPROPANÓIDE | F | TAOUBI, 1992 |
| V. CANESCENS | ABUTASTERONA,24-EPI | ESTERÓIDE | CR | SUKSAMRARN, 1997 |
| V. CANESCENS | CALONISTERONA | ESTERÓIDE | CR | SUKSAMRARN, 1997 |
| V. CANESCENS | CANESCENSTERONA | ESTERÓIDE | C | SUKSAMRARN, 1995 |
| V. CANESCENS | ECDISONA, β | ESTERÓIDE | C | SUKSAMRARN, 1995 |
| V. CANESCENS | ECDISONA,11- α -20-24(R)-TRIHIDRO | ESTERÓIDE | CR | SUKSAMRARN, 2000 |
| V. CANESCENS | ECDISONA,11- α -20-26-TRIHIDROXI | ESTERÓIDE | CR | SUKSAMRARN, 2000 |
| V. CANESCENS | MAQUISTERONA A,24-EPI | ESTERÓIDE | CR | SUKSAMRARN, 1997 |
| V. CANESCENS | TURQUESTERONA | ESTERÓIDE | C | SUKSAMRARN, 1995 |
| V. CANNABIFOLIA | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | F | TAGUCHI, 1976 |
| V. CANNABIFOLIA | ARTEMETINA | FLAVONOL | F | TAGUCHI, 1976 |
| V. CANNABIFOLIA | AUCUBINA | IRIDOID MONOTERPEN | F | KOOIMAN, 1975 |
| V. CANNABIFOLIA | CAMPESTEROL | ESTERÓIDE | CR | MURAKAMI, 1963 |
| V. CANNABIFOLIA | SITOSTEROL, β | ESTERÓIDE | CR | MURAKAMI, 1963 |
| V. CANNABIFOLIA | STIGMASTEROL | ESTERÓIDE | CR | MURAKAMI, 1963 |
| V. CYMOSA | ECDISONA, β | ESTERÓIDE | CC | DOS SANTOS, 2001 |
| V. CYMOSA | PINATASTERONA,26-HIDROXI: 25(R) | ESTERÓIDE | CC | DOS SANTOS, 2001 |
| V. CYMOSA | PINATASTERONA,26-HIDROXI: 25(S) | ESTERÓIDE | CC | DOS SANTOS, 2001 |
| V. FERRUGINEA | AUCUBINA | IRIDÓIDE | F | KOOIMAN, 1975 |
| V. GLABRATA | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | F + C | KOOIMAN, 1975 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|----------------|--|------------------|-----------------|---------------------------|
| V. GLABRATA | ECDISONA, α | ESTERÓIDE | PI | PIYATIRATITIVORAKUL, 1996 |
| V. GLABRATA | ECDISONA, β | ESTERÓIDE | C | WERAWATTANAMETIN, 1972 |
| V. GLABRATA | ECDISONA, 11- α -20-DIHIROXI | ESTERÓIDE | C | WERAWATTANAMETIN, 1986 |
| V. GLABRATA | SITOSTEROL, β | ESTERÓIDE | CC | WERAWATTANAMETIN, 1972 |
| V. LEPTOBOTRYS | β -TETRAHIDROXI-6'-O-METOXI CRUSTECDISONA, DEOXI | ESTERÓIDE | F + C | THUY, 1998 |
| V. LEPTOBOTRYS | AJUGASTERONA C | ESTERÓIDE | PA | TRINH, 1999 |
| V. LEPTOBOTRYS | CARDAMOMINA | FLAVONÓIDE | F + C | THUY, 1998 |
| V. LEPTOBOTRYS | CHALCONA, 2'-4'-DIHIROXI-4-6'-DIMETIL | FLAVONÓIDE | PA | DOS SANTOS, 2001 |
| V. LEPTOBOTRYS | ECDISONA, β | ESTERÓIDE | PA | TRINH, 1999 |
| V. LEPTOBOTRYS | HELICRISETINA | FLAVONÓIDE | F + C | THUY, 1998 |
| V. LEPTOBOTRYS | MAQUISTERONA A | ESTERÓIDE | PA | TRINH, 1999 |
| V. LEPTOBOTRYS | PINASTASTERONA | ESTERÓIDE | PA | TRINH, 1999 |
| V. LEUCOXILON | AGNOSIDEO | IRIDÓIDE | F | RAO, 1997 |
| V. LEUCOXILON | AUCUBINA | IRIDÓIDE | F | RAO, 1997 |
| V. LEUCOXILON | SITOSTEROL, β | ESTERÓIDE | F | RAO, 1997 |
| V. LIMONIFOLIA | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | C | SUKSAMRARN, 1999 |
| V. LIMONIFOLIA | CARIOFILENO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | SUKSAMRARN, 1990 |
| V. LIMONIFOLIA | LIMONIDILACTONA | DITERPENÓIDE | F | APHAJTT, 1995 |
| V. LIMONIFOLIA | LIMONISIDEO | IRIDÓIDE | C | SUKSAMRARN, 1999 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|-----------------|---------------------|----------------|-----------------|------------------|
| V. LIMONIFOLIA | NEGUNDOSIDEO | IRIDÓIDE | F | SUKSAMRARN, 1999 |
| V. LIMONIFOLIA | PINENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | SUKSAMRARN, 1990 |
| V. LUCENS | β -CAROTENO | CAROTENÓIDE | F | CAMBIE, 1959 |
| V. LUCENS | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | C | HANSEL, 1965 |
| V. LUCENS | AUCUBINA | IRIDÓIDE | C | HANSEL, 1965 |
| V. LUCENS | AUCUBINA | IRIDÓIDE | F | KOOIMAN, 1975 |
| V. LUCENS | LUCENINA 2 | FLAVONA | C | SEIKEL, 1966 |
| V. LUCENS | LUCENINA 3 | FLAVONA | C | SEIKEL, 1966 |
| V. LUCENS | LUCENINA 4 | FLAVONA | C | SEIKEL, 1966 |
| V. LUCENS | LUCENINA 5 | FLAVONA | C | SEIKEL, 1965 |
| V. LUCENS | LUCENINAA 1 | FLAVONA | C | HANSEL, 1965 |
| V. LUCENS | ORIENTINA | FLAVONA | C | SEIKEL, 1966 |
| V. LUCENS | SAPONARETINA | FLAVONA | C | SEIKEL, 1959 |
| V. LUCENS | SITOSTEROL, β | ESTERÓIDE | C | CAMBIE, 1959 |
| V. LUCENS | VICENINA 1 | FLAVONA | C | SEIKEL, 1965 |
| V. LUCENS | VICENINA 2 | FLAVONA | C | SEIKEL, 1965 |
| V. LUCENS | VICENINA 3 | FLAVONA | C | SEIKEL, 1965 |
| V. MACROPHYLLA | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | S | KOOIMAN, 1975 |
| V. MACROPHYLLA | AUCUBINA | IRIDÓIDE | S | KOOIMAN, 1975 |
| V. MADIENSIS | AJUGASTERONA C | ESTERÓIDE | CR | KUBO, 1984 |
| V. MADIENSIS | ECDISONA, β | ESTERÓIDE | CR | KUBO, 1984 |
| V. MEGAPOTAMICA | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | PA | RIMPLER, 1972 |
| V. MEGAPOTAMICA | ECDISONA, β | ESTERÓIDE | F | RIMPLER, 1967 |
| V. MEGAPOTAMICA | POLIPODINA B | ESTERÓIDE | PI | RIMPLER, 1969 |
| V. MEGAPOTAMICA | PTEROSTERONA | ESTERÓIDE | PA | RIMPLER, 1972 |
| V. MEGAPOTAMICA | VITICOSTERONA E | ESTERÓIDE | PI | RIMPLER, 1969 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|------------|---------------------------------------|------------------|-----------------|-------------------|
| V. NEGUNDO | β -BOURBUNENO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | α -COPAENO, | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | α -CUBEENO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | ABIETA-7-13-DIENO | DITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | ACEROSINA-5-O- β -D-GLUCOSIDE | FLAVONA | CC | SUBRAMANIAN, 1979 |
| V. NEGUNDO | ACETATO DE β SITOSTEROL | ESTERÓIDE | R | MUKHERJEE, 1981 |
| V. NEGUNDO | ACETATO DE BORNEOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | ACETATO DE GERANIOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | TANEJA, 1979 |
| V. NEGUNDO | ACETATO DE LINALOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | ÁCIDO FERÚLICO | FENILPROPANÓIDE | PI | CHOU, 1983 |
| V. NEGUNDO | ÁCIDO MUSSAENOSÍDICO,2'-PARA-HIDROXI- | IRIDÓIDE | F | DAYRIT, 1994 |
| V. NEGUNDO | ÁCIDO PARA-CUMÁRICO | FENILPROPANÓIDE | PI | CHOU, 1983 |
| V. NEGUNDO | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | F | DAYRIT, 1994 |
| V. NEGUNDO | ALDEÍDO CINÂMICO | FENILPROPANÓIDE | OEF | TANEJA, 1979 |
| V. NEGUNDO | AROMADENDRENO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | ARTEMETINA | FLAVONOL | F | FERDOUS, 1984 |
| V. NEGUNDO | AUCUBINA | IRIDÓIDE | F | HANSEL, 1965 |
| V. NEGUNDO | AUCUBINA | IRIDÓIDE | F | KOOIMAN, 1975 |
| V. NEGUNDO | BERGAMOTENO, β : TRANS | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | BERGAMOTENO, β : CIS | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | BORNEOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | CADINENO, δ | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | CADINENO, γ | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | CADINOL, α | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|------------|----------------------|------------------|-----------------|-------------------|
| V. NEGUNDO | CADINOL,T | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | CANFENO | MONOTERPENÓIDE | OE | MANALO, 1982 |
| V. NEGUNDO | CÂNFORA | MONOTERPENÓIDE | OEF | TANEJA, 1979 |
| V. NEGUNDO | CAR-3-ENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | CARIOFILENO | SESQUITERPENÓIDE | OE | MANALO, 1982 |
| V. NEGUNDO | CARVEOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | CASTICINA | FLAVONOL | F | DAYRIT, 1987 |
| V. NEGUNDO | CINAROSIDEO | FLAVONA | F | SIRAIT, 1962 |
| V. NEGUNDO | CINEOL,1-8 | MONOTERPENÓIDE | OE | CHEN, 1999 |
| V. NEGUNDO | CITRAL | MONOTERPENÓIDE | OE | MANALO, 1982 |
| V. NEGUNDO | CITRONELAL | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | CITRONELOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | CORIMBOSINA | FLAVONA | F + PA | BANERJI, 1988 |
| V. NEGUNDO | CRISOSPLENOL D | FLAVONOL | F | DAYRIT, 1987 |
| V. NEGUNDO | DAUCOSTEROL | ESTERÓIDE | FR | KANG, 1994 |
| V. NEGUNDO | ELEMENO, β | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | ELEMENO, γ | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | ELEMOL | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | EUDESMOL | SESQUITERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | EUGENOL | FENILPROPANOÍDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | FARNESENO, β | SESQUITERPENÓIDE | OE | CHEN, 1999 |
| V. NEGUNDO | FELANDRENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | GARDENINA A | FLAVONA | F + PA | BANERJI, 1988 |
| V. NEGUNDO | GARDENINA B | FLAVONA | F + PA | BANERJI, 1988 |
| V. NEGUNDO | GERANIOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | TANEJA, 1979 |
| V. NEGUNDO | GERMACRENO D | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|------------|--|------------------|-----------------|-------------------|
| V. NEGUNDO | GLOBULOL | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | GUAIENO, α | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | GURJUNENO, α | SESQUITERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | HESPERIDINA | FLAVANONE | FR | KANG, 1994 |
| V. NEGUNDO | HUMULENO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | LAGUNDININA | IRIDÓIDE | F | DAYRIT, 1994 |
| V. NEGUNDO | LANOSTA-8-25-DIEN-3- β -OL | TRITERPENÓIDE | OS | CHAWLA, 1991 |
| V. NEGUNDO | LIMONENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | LINALOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | TANEJA, 1979 |
| V. NEGUNDO | LUTEOLINA | FLAVONA | F | DAYRIT, 1987 |
| V. NEGUNDO | MIRCENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | MIRCENOL,DIHIDRO | MONOTERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | NEGUNDOSIDEO HIDRO: 3-FORMIL-4-5-DIMETIL-8-OXO | IRIDÓIDE | F | DUTTA, 1983 |
| V. NEGUNDO | NEROLIDOL,CIS | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | NOBILETINA,5-O- DIMETIL | FLAVONA | F + PA | BANERJI, 1988 |
| V. NEGUNDO | OCIMENO, β : TRANS | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | ORIENTINA,ISO | FLAVONA | F | DAYRIT, 1987 |
| V. NEGUNDO | PARA -CIMENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | HEBBALKAR, 1992 |
| V. NEGUNDO | PINENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | TANEJA, 1979 |
| V. NEGUNDO | SABINENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | SELINENO, β | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | SITOSTEROL, β | ESTERÓIDE | C | RAO, 1977 |
| V. NEGUNDO | SPATULENOL | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | STIGMASTEROL | ESTERÓIDE | R | MUKHERJEE, 1981 |
| V. NEGUNDO | TERPINEN-4-OL | MONOTERPENÓIDE | OEF | HEBBALKAR, 1992 |

| ESPÉCIE | | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|------------------|------|---------------------|------------------|-----------------|-------------------|
| V. NEGUNDO | | TERPINENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | HEBBALKAR, 1992 |
| V. NEGUNDO | | TERPINENO, γ | MONOTERPENÓIDE | OEF | HEBBALKAR, 1992 |
| V. NEGUNDO | | TERPINOLENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | | TUJENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | SINGH, 1999 |
| V. NEGUNDO | | VERBENONA | MONOTERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | | VIRIDIFLORENO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | | VIRIDIFLOROL | SESQUITERPENÓIDE | OEF | MALLAVARAPU, 1994 |
| V. NEGUNDO | VAR. | ACETATO DE BORNEOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| V. CANNABIFOLIA | | | | | |
| V. NEGUNDO | VAR. | CARIOFILENO OXIDE | SESQUITERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| V. CANNABIFOLIA | | | | | |
| V. NEGUNDO | VAR. | CARIOFILENO,TRANS | SESQUITERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| V. CANNABIFOLIA | | | | | |
| V. NEGUNDO | VAR. | CINEOL,1-8 | MONOTERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| V. CANNABIFOLIA | | | | | |
| V. NEGUNDO | VAR. | PARA -CIMENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| V. CANNABIFOLIA | | | | | |
| V. NEGUNDO | VAR. | PINENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| V. CANNABIFOLIA | | | | | |
| V. NEGUNDO | VAR. | SABINENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| V. CANNABIFOLIA | | | | | |
| V. NEGUNDO | | ACETATO DE BORNEOL | MONOTERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| VAR.HETEROPHYLLA | | | | | |
| V. NEGUNDO | | CARIOFILENO OXIDE | SESQUITERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| VAR.HETEROPHYLLA | | | | | |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|--------------------------------|---------------------------------|----------------|-----------------|------------------|
| V. NEGUNDO VAR.HETEROPHYLLA | CINEOL,1-8 | MONOTERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| V. NEGUNDO VAR.HETEROPHYLLA | PARA -CIMENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| V. NEGUNDO VAR.HETEROPHYLLA | PINENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | FANG, 1980 |
| V. NEGUNDO VAR.HETEROPHYLLA | SABINENO | MONOTERPENÓIDE | OE | SHI, 1984 |
| V. PEDUNCULARIS | ÁCIDO COLOSÓLICO | TRITERPENÓIDE | F | SAHU, 1984 |
| V. PEDUNCULARIS | ÁCIDO URSÓLICO | TRITERPENÓIDE | F | SAHU, 1984 |
| V. PEDUNCULARIS | FRIEDELINA | TRITERPENÓIDE | F | SAHU, 1984 |
| V. PEDUNCULARIS | FRIEDELINOL,EPI | TRITERPENÓIDE | F | SAHU, 1984 |
| V. PEDUNCULARIS | PACIPODOL | FLAVONOL | F | SAHU, 1984 |
| V. PEDUNCULARIS | PEDUNCULARISINA | FLAVONOL | F | SAHU, 1984 |
| V. PEDUNCULARIS | SITOSTEROL, β | ESTERÓIDE | F | SAHU, 1984 |
| V. PINNATA | ECDISONA, β | ESTERÓIDE | C | SUKSAMRARN, 1993 |
| V. PINNATA | LUTEOLINA | FLAVONA | FL | RAMIAH, 1989 |
| V. PINNATA | ORIENTINA | FLAVONA | FL | RAMIAH, 1989 |
| V. PINNATA | PINATASTERONA | ESTERÓIDE | C | SUKSAMRARN, 1993 |
| V. PINNATA | TURQUESTERONA | ESTERÓIDE | C | SUKSAMRARN, 1993 |
| V. POLYGAMA | AJUGASTERONA C | ESTERÓIDE | PA | DOS SANTOS, 2001 |
| V. POLYGAMA | ECDISONA, β | ESTERÓIDE | PA | DOS SANTOS, 2001 |
| V. POLYGAMA | FENIL: ETIL ESTER QUERCETINA | FLAVONOL | F | GONCALVES, 2001 |
| V. POLYGAMA | LUTEOLINA | FLAVONA | F | GONCALVES, 2001 |
| V. POLYGAMA | ORIENTINA | FLAVONA | F | LEITAO, 1998 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|-----------------|--|------------------|-----------------|------------------|
| V. POLYGAMA | ORIENTINA,ISO | FLAVONA | F | GONCALVES, 2001 |
| V. POLYGAMA | SPATULENOL,(+) | SESQUITERPENÓIDE | F | BARBOSA, 1995 |
| V. POLYGAMA | TURQUESTERONA | ESTERÓIDE | PA | DOS SANTOS, 2001 |
| V. QUINATA | LUPEOL | TRITERPENÓIDE | F | LAUVALERT, 1973 |
| V. QUINATA | SITOSTEROL, β | ESTERÓIDE | F | LAUVALERT, 1973 |
| V. ROTUNDIFOLIA | ABIETA-9(11)-12-DIENO | DITERPENÓIDE | FR | SAKURAI, 1999 |
| V. ROTUNDIFOLIA | ÁCIDO POLIALTICO,(+) | DITERPENÓIDE | PI | MIYAZAWA, 1995 |
| V. ROTUNDIFOLIA | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | FR | OKUYAMA, 1998 |
| V. ROTUNDIFOLIA | ARTEMETINA | FLAVONOL | S | CHEN, 1978 |
| V. ROTUNDIFOLIA | CASTICININA 4'-O- β -D-GLUCOSIDE | FLAVONOL | FR | OKUYAMA, 1998 |
| V. ROTUNDIFOLIA | CRISOSPLENOL | FLAVONOL | FR | OKUYAMA, 1998 |
| V. ROTUNDIFOLIA | EUCOMIOL | IRIDÓIDE | FR | ONO, 1997 |
| V. ROTUNDIFOLIA | EUROSTOSIDEO | IRIDÓIDE | F | KOUNO, 1988 |
| V. ROTUNDIFOLIA | FERRUGINOL | DITERPENÓIDE | FR | ONO, 1999 |
| V. ROTUNDIFOLIA | GUAIACIL-GLICEROL,ERITRO | FENILPROPANÓIDE | FR | OKUYAMA, 1998 |
| V. ROTUNDIFOLIA | IRIDOLACTONA | IRIDÓIDE | FR | ONO, 1997 |
| V. ROTUNDIFOLIA | LACTONA PEDICULARIS | IRIDÓIDE | FR | ONO, 1997 |
| V. ROTUNDIFOLIA | LUTEOLINA | FLAVONA | FR | SHIN, 1994 |
| V. ROTUNDIFOLIA | PENDULETINA | FLAVONOL | FR | OKUYAMA, 1998 |
| V. ROTUNDIFOLIA | PREROTUNDIFURANO | DITERPENÓIDE | F | ASAKA, 1973 |
| V. ROTUNDIFOLIA | ROTUNDIFURANO | DITERPENÓIDE | FR | KO, 2001 |
| V. ROTUNDIFOLIA | VITEOIDE - BENZIL - GLICOSÍDEO | IRIDÓIDE | FR | ONO, 1997 |
| V. ROTUNDIFOLIA | VITEOIDE II | IRIDÓIDE | FR | ONO, 1997 |

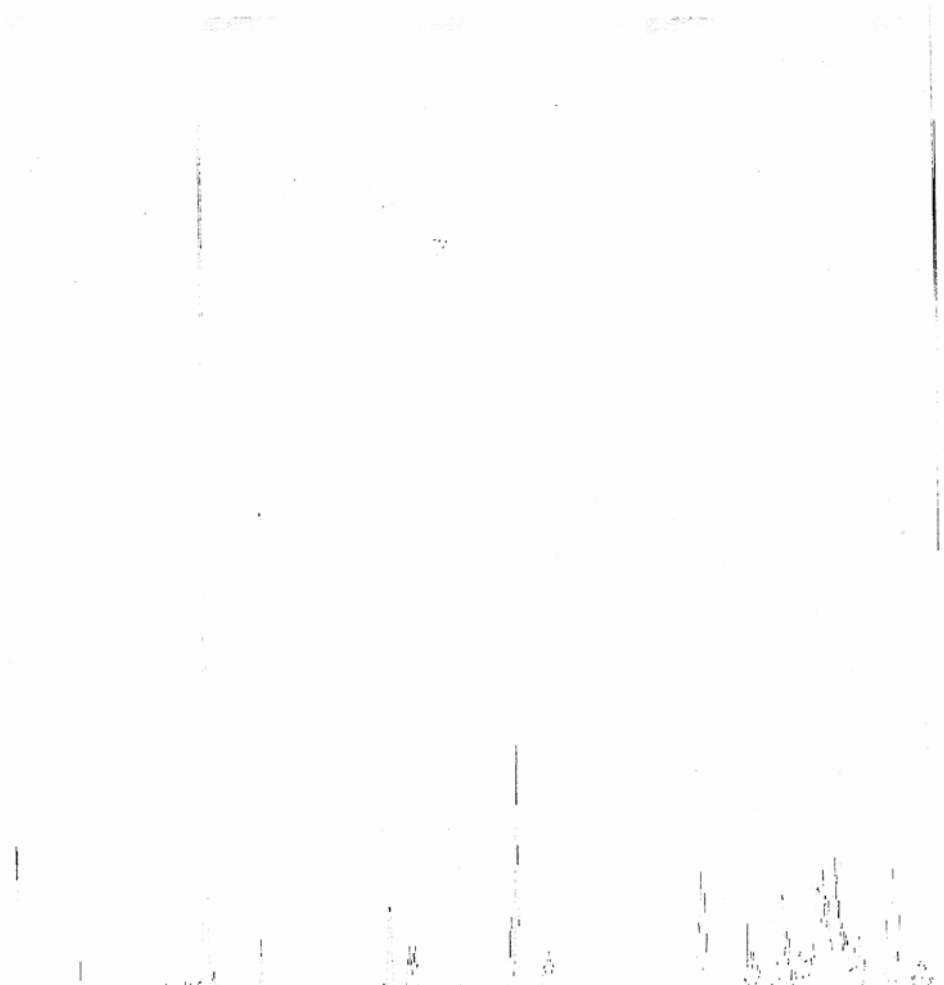
| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|-----------------|---------------------------------|------------------|-----------------|------------------|
| V. ROTUNDIFOLIA | VITEOSIDEO | DITERPENÓIDE | FR | ONO, 1998 |
| V. STRICKERI | ABUTASTERONA | ESTERÓIDE | CR | KUBO, 1992 |
| V. STRICKERI | AJUGASTERONA C | ESTERÓIDE | CR | KUBO, 1992 |
| V. STRICKERI | ECDISONA, β | ESTERÓIDE | CR | ZHANG, 1992 |
| V. STRICKERI | ECDISONA, 11- α -HIDROXI | ESTERÓIDE | CR | KUBO, 1992 |
| V. THYRSIFLORA | ECDISONA, β | ESTERÓIDE | FR | KUBO, 1985 |
| V. TRIFOLIA | AGNOSÍDEO | IRIDÓIDE | F | SIRAIT, 1966 |
| V. TRIFOLIA | ARTEMETINA | FLAVONOL | F | NAIR, 1975 |
| V. TRIFOLIA | ARTEMETINA, 7-DE-O-METIL | FLAVONOL | F | NAIR, 1975 |
| V. TRIFOLIA | AUCUBINA | IRIDÓIDE | F | HANSEL, 1965 |
| V. TRIFOLIA | AUCUBINA | IRIDÓIDE | FR | KOOIMAN, 1975 |
| V. TRIFOLIA | CARIOFILENO | SESQUITERPENÓIDE | OEF | SUKSAMRARN, 1991 |
| V. TRIFOLIA | CASTICINA | FLAVONOL | FR | ZENG, 1996 |
| V. TRIFOLIA | CINEOL, 1-8 | MONOTERPENÓIDE | OEF | SUKSAMRARN, 1991 |
| V. TRIFOLIA | DAUCOSTEROL | ESTERÓIDE | FR | ZENG, 1996 |
| V. TRIFOLIA | FRIEDELINA | TRITERPENÓIDE | F | CHANDLER, 1979 |
| V. TRIFOLIA | LUTEOLINA | FLAVONA | F | RAMESH, 1986 |
| V. TRIFOLIA | ORIENTINA, ISO | FLAVONA | F | RAMESH, 1986 |
| V. TRIFOLIA | PINENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | SUKSAMRARN, 1991 |
| V. TRIFOLIA | QUERCETAGETINA, 3-6-7-TRIMETIL | FLAVONOL | FR | ZENG, 1996 |
| V. TRIFOLIA | SABINENO | MONOTERPENÓIDE | OEF | SUKSAMRARN, 1991 |
| V. TRIFOLIA | SITOSTEROL, β | ESTERÓIDE | FR | ZENG, 1996 |
| V. TRIFOLIA | TERPINEOL ACETATO | MONOTERPENÓIDE | OEF | SUKSAMRARN, 1991 |
| V. TRIFOLIA | VITETRIFOLINA D | DITERPENÓIDE | FR | ONO, 2001 |
| V. TRIFOLIA | VITETRIFOLINA E | DITERPENÓIDE | FR | ONO, 2001 |

| ESPÉCIE | SUBSTÂNCIA | CLASSIFICAÇÃO | PARTE DA PLANTA | REFERÊNCIA |
|-------------------------|-------------------------------|----------------|-----------------|------------------|
| V. TRIFOLIA | VITETRIFOLINA F | DITERPENÓIDE | FR | ONO, 2001 |
| V. TRIFOLIA | VITETRIFOLINA G | DITERPENÓIDE | FR | ONO, 2001 |
| V. TRIFOLIA | VITRICINA | ALCALÓIDE | FR | DOPKE, 1962 |
| V. VAR.SIMPLICIFOLIA | TRIFOLIA CINEOL,1-8 | MONOTERPENÓIDE | OEF | SUKSAMRARN, 1991 |
| V. VAR.SIMPLICIFOLIA | TRIFOLIA PINENO, α | MONOTERPENÓIDE | OEF | SUKSAMRARN, 1991 |
| V. VAR.SIMPLICIFOLIA | TRIFOLIA TERPINEOL ACETATO | MONOTERPENÓIDE | OEF | SUKSAMRARN, 1991 |

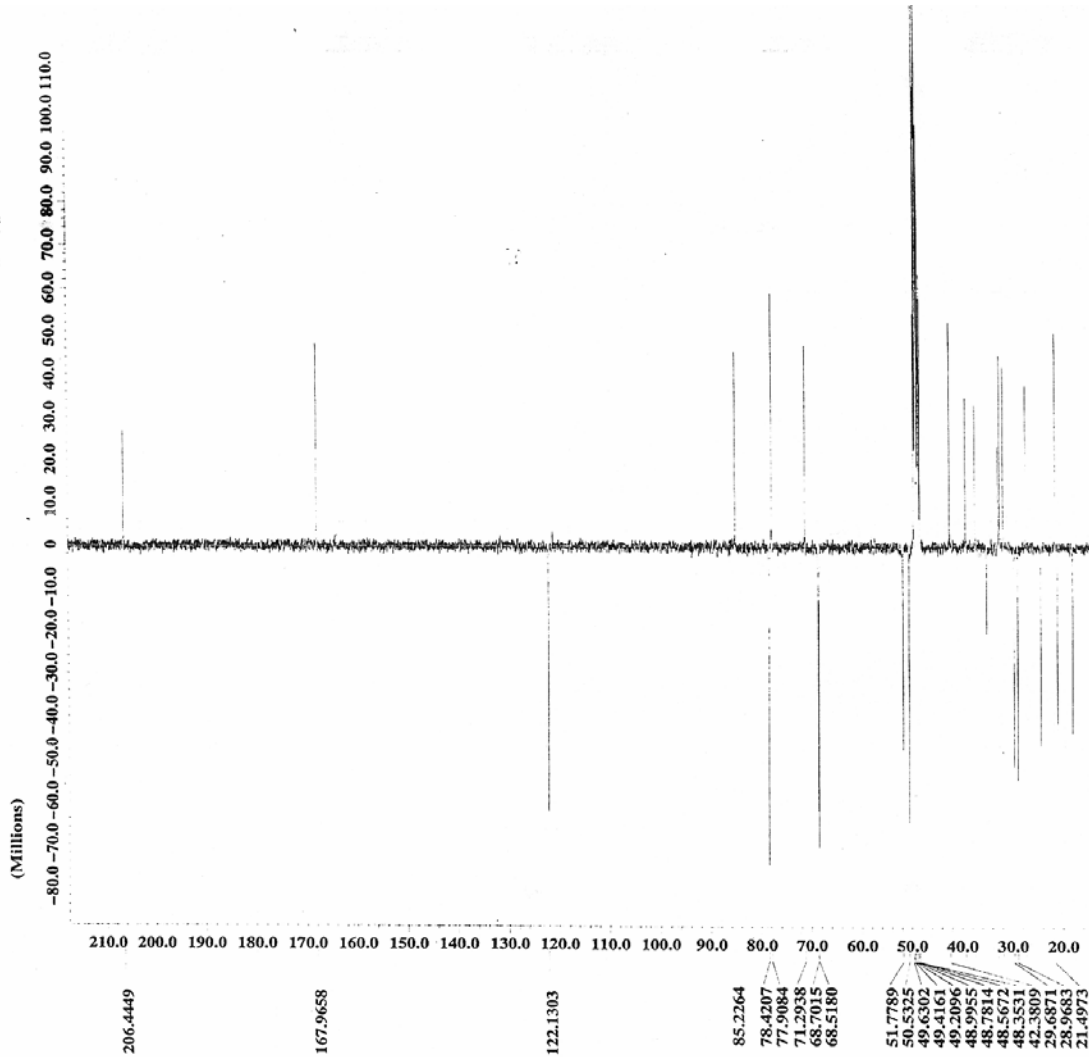
F = folhas; FR = fruto; FL = flores; S = sementes; C = caule; CC = casca do caule; R = raízes; CR = cascas das raízes; PI = planta inteira; PA = partes aéreas; OE = óleo essencial; OEF = óleo essencial das folhas; OEFL = óleo essencial das flores; OS = óleo das sementes.

5.2. ANEXO II: ESPECTROS DO COMPOSTO VA ISOLADO DAS CASCAS DO CAULE DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER (VERBENACEAE)

(Millions)
3.0
2.0
1.0



```
---- ACQUISITION PARAMETERS ----  
File Name      = MOLECR_id_spectrum.7  
Author        = Jan Schripsema  
Sample ID     = MOLECR  
Content       = Single Pulse Experiment  
Creation Date  = 17-DEC-2003 21:05:50  
  
Revision Date  = 17-DEC-2003 21:06:43  
Spec Site     = Eclipse+ 400  
  
Spec Type     = DELTA_NMR  
Data Format    = 1D COMPLEX  
Dimensions    = X  
Dim Title     = 1H  
Dim Size      = 16384  
Dim Units     = [ppm]  
Acq_delay     = 0.2237[ms]  
Changer_sample = 0  
Experiment    = single_pulse.exp  
Field_strength = 9.389766[T]  
Irr90        = 14.7[us]  
Irr90_hi     = 23.5[us]  
Irr90_lo     = 60[us]  
Irr_pwidth   = 60[us]  
Lock_status   = IDLE  
Recvr_gain    = 8  
Relaxation_delay = 4[s]  
Scans        = 8  
Solvent      = METHANOL-D3  
Spin_get     = 15[Hz]  
Spin_lock_90 = 90[us]  
Spin_lock_attn = 12.5[dB]  
Spin_set     = 15[Hz]  
Spin_state   = SPIN ON  
Spin_status  = SPIN ON  
Temp_get     = 25[dc]  
Temp_set     = 25[dc]  
Temp_state   = TEMP ON  
Temp_status  = TEMP ON  
X90         = 14.7[us]  
X90_hi      = 23.5[us]  
X90_lo      = 60[us]  
X_acq_duration = 3.7240832[s]  
X_domain     = 1H  
X_freq       = 399.78219838[MHz]  
X_offset     = 0[ppm]  
X_points     = 16384  
X_prescans   = 0  
X_pulse      = 7.35[us]  
X_resolution = 0.26852246[Hz]  
X_sweep      = 4.39947206[kHz]
```

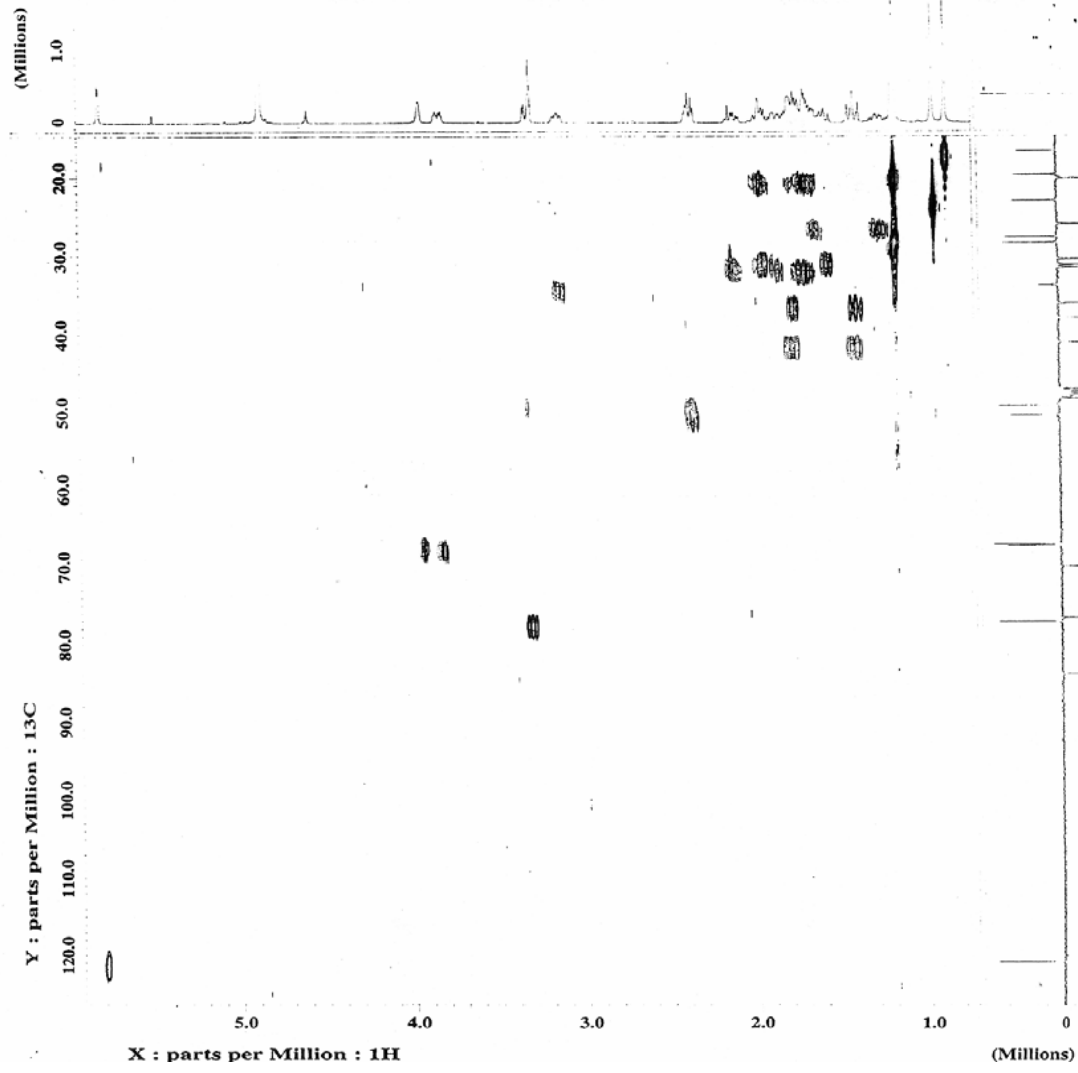


---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = MOLECR Apt.2
Author = Jan Schripsema
Sample ID = MOLECR
Content = APT Experiment
Creation Date = 18-DEC-2003 14:27:09

Revision Date = 18-DEC-2003 16:07:02
Spec Site = Eclipse+ 400

Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = 2
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Acq_delay = 38.7[us]
Changer_sample = 0
Experiment = apt.exp
Field_strength = 9.389766[T]
Irr90 = 14.7[us]
Irr90_hi = 23.5[us]
Irr90_lo = 60[us]
Irr_domain = 1H
Irr_pwidth = 60[us]
J_constant = 140[Hz]
Lock_status = TDLE
Recvr_gain = 15
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 6504
Solvent = METHANOL-D3
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[dB]
Spin_set = 15[Hz]
Spin_status = SPIN ON
Spin_status = SPIN ON
Temp_get = 25.1[dc]
Temp_set = 25[dc]
Temp_status = TEMP ON
Temp_status = TEMP ON
X30 = 10[us]
X30_hi = 9.5[us]
X30_lo = 35[us]
X_acq_duration = 1.3008896[s]
X_domain = 13C
X_freq = 100.52530333 [MHz]
X_offset = 120 [ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 5[us]
X_resolution = 0.76870474 [Hz]
X_sweep = 25.18891688 [kHz]

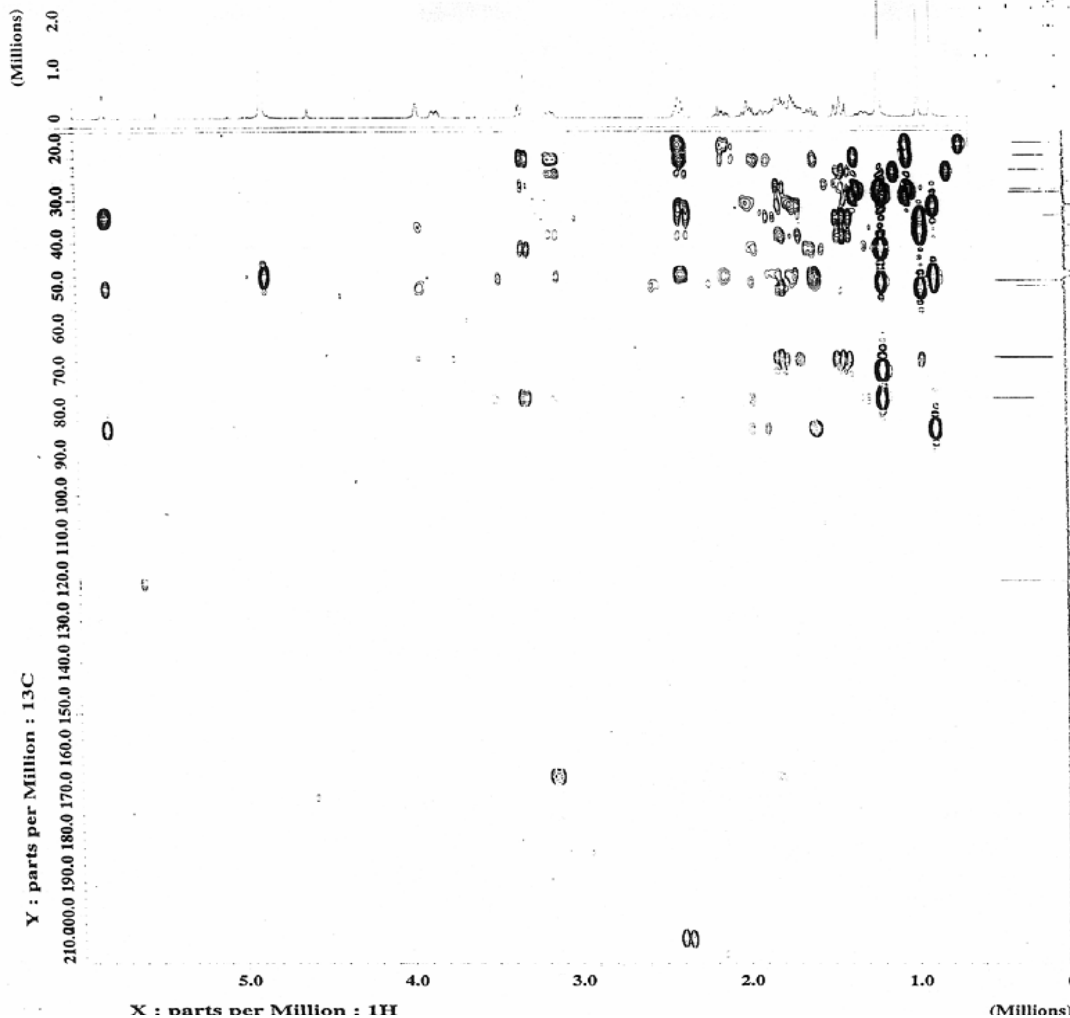
X : parts per Million : 13C



----- ACQUISITION PARAMETERS -----
File Name = MOLECR_pfg_hmqc.2
Author = Jan Schripsema
Sample ID = MOLECR
Content = gradient enhanced HMQC
Creation Date = 18-DEC-2003 08:38:55

Revision Date = 18-DEC-2003 08:39:11
Spec Site = Eclipse+ 400

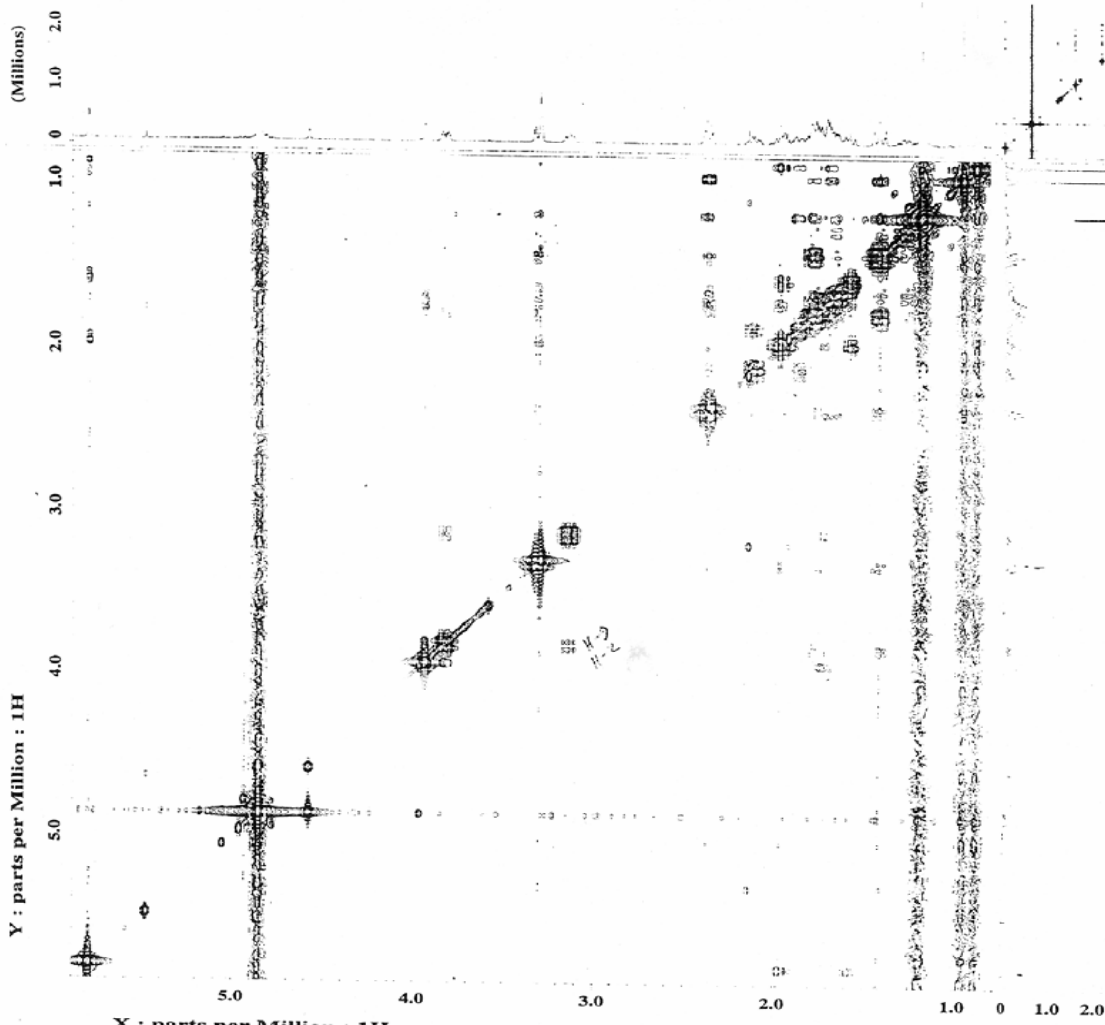
Spec Type = DELTA_RMR
Data Format = 2D REAL REAL
Dimensions = X Y
Dim Title = 1H 13C
Dim Size = 1024, 256
Dim Units = [ppm] [ppm]
Acq_delay = 0.4095[ms]
Changer_sample = 0
Experiment = hmqc_irr_pfg_s.o
Field_strength = 9.389766[T]
Grad_1 = 1[ms]
Grad_1_amp = 10[pnt]
Grad_2 = 1[ms]
Grad_2_amp = 10[pnt]
Grad_3 = 1[ms]
Grad_3_amp = 5[pnt]
Grad_recover = 0.2[ms]
Irr90 = 14.7[us]
Irr90_hi = 23.5[us]
Irr90_lo = 60[us]
Irr_pwidth = 35[us]
J_constant = 140[Hz]
Lock_status = IDLE
Recvr_gain = 15
Relaxation_delay = 2[s]
Scans = 32
Solvent = METHANOL-D3
Spin_get = 14[Hz]
Spin_lock_90 = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[dB]
Spin_set = 15[Hz]
Spin_state = SPIN ON
Spin_status = SPIN ON
Temp_get = 25[dc]
Temp_set = 25[dc]
Temp_state = TEMP ON
Temp_status = TEMP ON
X90 = 14.7[us]
X90_hi = 23.5[us]
X90_lo = 60[us]
X_acq_duration = 0.4268032[s]
X_domain = 1H
X_freq = 399.78219838[MHz]
X_offset = 3.2[ppm]
X_points = 1024
X_prescans = 4
X_pulse = 14.7[us]
X_resolution = 2.3430024[Hz]
X_sweep = 2.39923225[kHz]
Y90 = 10[us]
Y90_hi = 9.5[us]
Y90_lo = 35[us]
Y_domain = 13C
Y_freq = 100.52530333[MHz]
Y_offset = 80[ppm]
Y_points = 128
Y_prescans = 0
Y_pulse = 9.5[us]
Y_resolution = 133.77568493[Hz]
Y_sweep = 17.12328767[kHz]



```
----- ACQUISITION PARAMETERS -----
File Name      = MOLECR_pfg_hmbc.2
Author         = Jan Schripsema
Sample ID      = MOLECR
Content        = gradient enhanced HBCD
Creation Date   = 18-DEC-2003 05:51:55

Revision Date  = 18-DEC-2003 05:52:16
Spec Site      = Eclipse+ 400

Spec Type      = DELTA_HMR
Data Format     = 2D REAL REAL
Dimensions     = X Y
Dim Title      = 1H 13C
Dim Size       = 1024, 512
Dim Units      = [ppm] [ppm]
Acq_delay      = 0.4095[ms]
Changer_sample = 0
Experiment     = hmbc_pfg_s.exp
Field_strength = 9.389766[T]
Grad_1         = 1[ms]
Grad_1_amp     = 10[pnt]
Grad_2         = 1[ms]
Grad_2_amp     = 10[pnt]
Grad_3         = 1[ms]
Grad_3_amp     = 5[pnt]
Grad_recover   = 0.2[ms]
Irr90          = 14.7[us]
Irr90_hi       = 23.5[us]
Irr90_lo       = 60[us]
Irr_width      = 38[us]
J_constant     = 140[Hz]
Lock_status    = IDLE
Long_range_j   = 8[Hz]
Recvr_gain     = 15
Relaxation_delay = 2[s]
Scans          = 64
Solvent        = METHANOL-D3
Spin_get       = 15[Hz]
Spin_lock_90   = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[db]
Spin_set       = 15[Hz]
Spin_status    = SPIN ON
Spin_status    = SPIN ON
Temp_get       = 25[dc]
Temp_set       = 25[dc]
Temp_status    = TEMP ON
Temp_status    = TEMP ON
X90            = 14.7[us]
X90_hi         = 23.5[us]
X90_lo         = 60[us]
X_acq_duration = 0.4268032[s]
X_domain       = 1H
X_freq         = 399.78219838[MHz]
X_offset       = 3.2[ppm]
X_points       = 1024
X_prescans     = 4
X_pulse        = 14.7[us]
X_resolution   = 2.34300024[Hz]
X_sweep        = 2.39923225[kHz]
Y90            = 10[us]
Y90_hi         = 9.5[us]
Y90_lo         = 35[us]
Y_domain       = 13C
Y_freq         = 100.52530333[MHz]
Y_offset       = 110[ppm]
Y_points       = 128
Y_prescans     = 0
Y_pulse        = 9.5[us]
Y_resolution   = 180.84490741[Hz]
```



JEOL

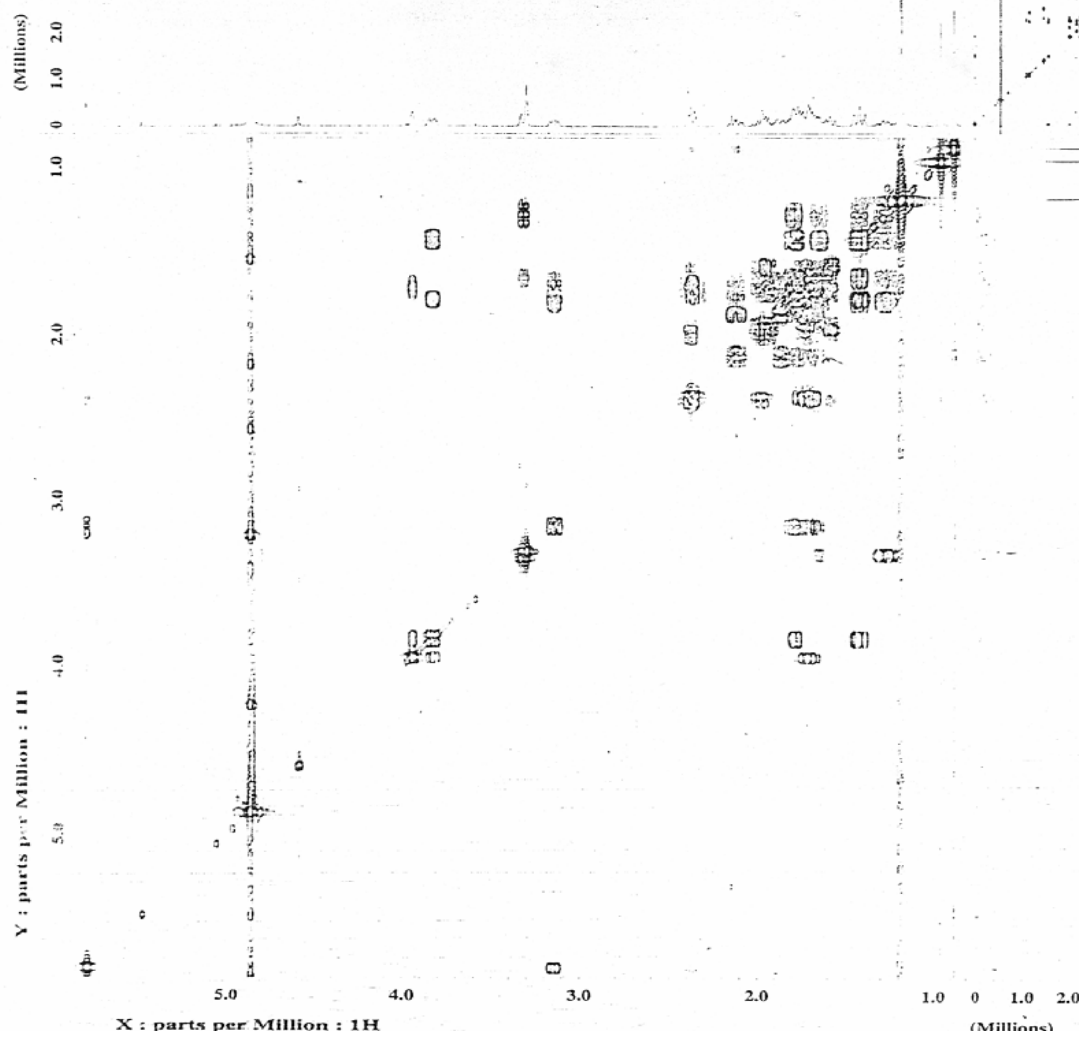
```

----- ACQUISITION PARAMETERS -----
File Name      = MOLECR_noesy.2
Author        = Jan Schripsema
Sample ID     = MOLECR
Content       = absolute value noesy
Creation Date  = 17-DEC-2003 23:49:57

Revision.Date  = 17-DEC-2003 23:50:16
Spec Site     = Eclipse+ 400

Spec Type     = DELTA_NMR
Data Format    = 2D REAL REAL
Dimensions    = X Y
Dim Title     = 1H 1H
Dim Size      = 512, 1024
Dim Units     = [ppm][ppm]
Acq_delay     = 0.4095[ms]
Changer_sample = 0
Experiment    = noesy.exp
Field_strength = 9.389766[T]
Irr90         = 14.7[us]
Irr90_hi     = 23.5[us]
Irr90_lo     = 60[us]
Irr_pwidth   = 60[us]
Lock_status   = IDLE
Recvr_gain    = 15
Relaxtion_delay = 1.5[s]
Scans         = 16
Solvent       = METHANOL-D3
Spin_get      = 14[Hz]
Spin_lock_90  = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[dB]
Spin_set      = 15[Hz]
Spin_state    = SPIN ON
Spin_status   = SPIN ON
Temp_get      = 25[dc]
Temp_set      = 25[dc]
Temp_state    = TEMP ON
Temp_status   = TEMP ON
X90           = 14.7[us]
X90_hi       = 23.5[us]
X90_lo       = 60[us]
X_acq_duration = 0.2134016[s]
X_domain     = 1H
X_freq       = 399.78219838[MHz]
X_offset     = 3.2[ppm]
X_points     = 512
X_prescans   = 4
X_pulse      = 14.7[us]
X_resolution = 4.68600048[Hz]
X_sweep      = 2.39923225[kHz]
Y90         = 10[us]
Y90_hi     = 10[us]
Y90_lo     = 50[us]
Y_domain    = 1H
Y_freq     = 399.78219838[MHz]
Y_offset    = 3.2[ppm]
Y_points    = 256
Y_prescans  = 0
Y_resolution = 9.37200096[Hz]
Y_sweep     = 2.39923225[kHz]

```

```

---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name      = MOLECR_cosy.2
Author        = Jan Schripsema
Sample ID     = MOLECR
Content       = absolute value COSY
Creation Date  = 18-DEC-2003 09:39:32

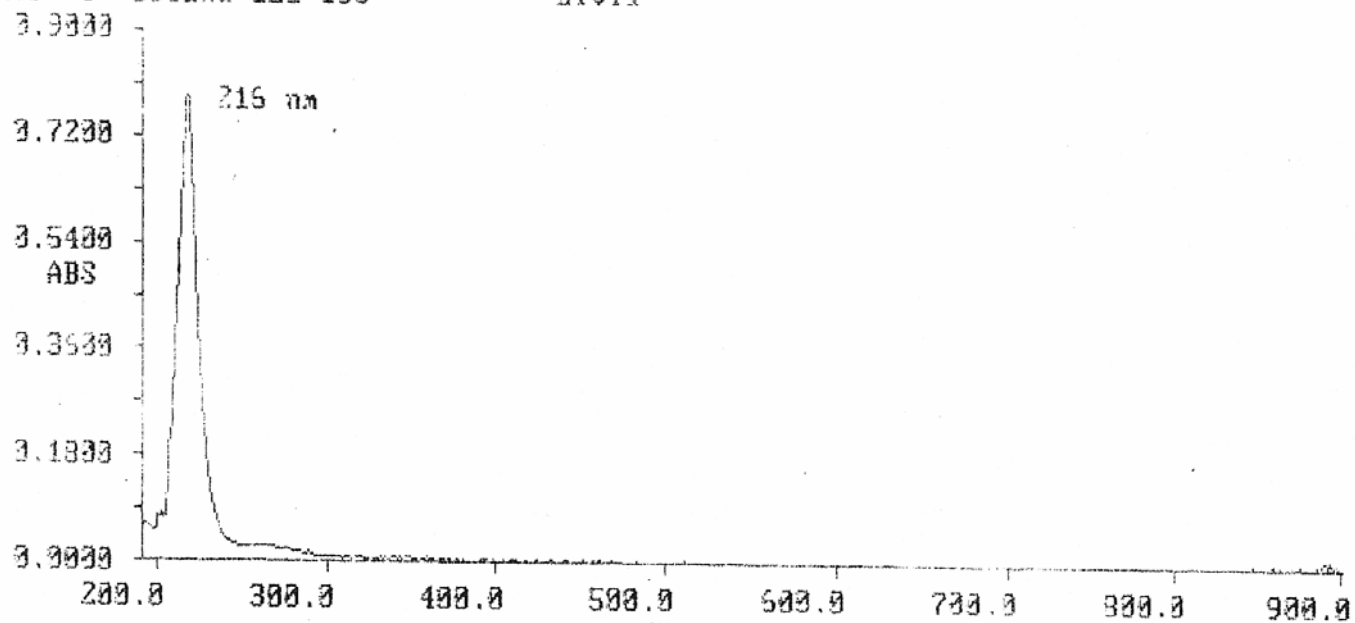
Revision Date  = 18-DEC-2003 09:39:49
Spec Site     = Eclipse+ 400

Spec Type     = DELTA_NMR
Data Format    = 2D REAL REAL
Dimensions    = X Y
Dim Title     = 1H 1H
Dim Size      = 512, 1024
Dim Units     = [ppm] [ppm]
Acc_delay     = 0.4095[ms]
Changer_sample = 0
Experiment    = cosy.exp
Field_strength = 9.389766[T]
Irr90         = 14.7[us]
Irr90_hi      = 23.5[us]
Irr90_lo      = 60[us]
Irr_pwidth    = 35[us]
Lock_status   = IDLE
Recvr_gain    = 15
Relaxation_delay = 1.5[s]
Scans         = 8
Solvent       = METHANOL-D3
Spin_get      = 14[Hz]
Spin_lock_90  = 90[us]
Spin_lock_attn = 12.5[dB]
Spin_set      = 15[Hz]
Spin_state    = SPIN ON
Spin_status   = SPIN ON
Temp_get      = 25[dc]
Temp_set      = 25[dc]
Temp_state    = TEMP ON
Temp_status   = TEMP ON
X90           = 14.7[us]
X90_hi        = 23.5[us]
X90_lo        = 60[us]
X_acq_duration = 0.2134016[s]
X_domain      = 1H
X_freq        = 399.78219838[MHz]
X_offset      = 3.2[ppm]
X_points      = 512
X_prescans    = 4
X_pulse       = 14.7[us]
X_resolution  = 4.68600048[Hz]
X_sweep       = 2.39923225[kHz]
Y90           = 10[us]
Y90_hi        = 10[us]
Y90_lo        = 50[us]
Y_domain      = 1H
Y_freq        = 399.78219838[MHz]
Y_offset      = 3.2[ppm]
Y_points      = 256
Y_prescans    = 0
Y_resolution  = 9.37200096[Hz]
Y_sweep       = 2.39923225[kHz]

```

5.3. ANEXO III: ESPECTROS DO COMPOSTO VB ISOLADO DAS CASCAS DO CAULE DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER (VERBENACEAE)

X: 88512 24; absc 300.0- 900.0; pts 711; int 1.00; ord -3.311-3.3413; A
inf: 3ª coluna 121-153 Livia



Background Subtract

File: E:\B0923-33

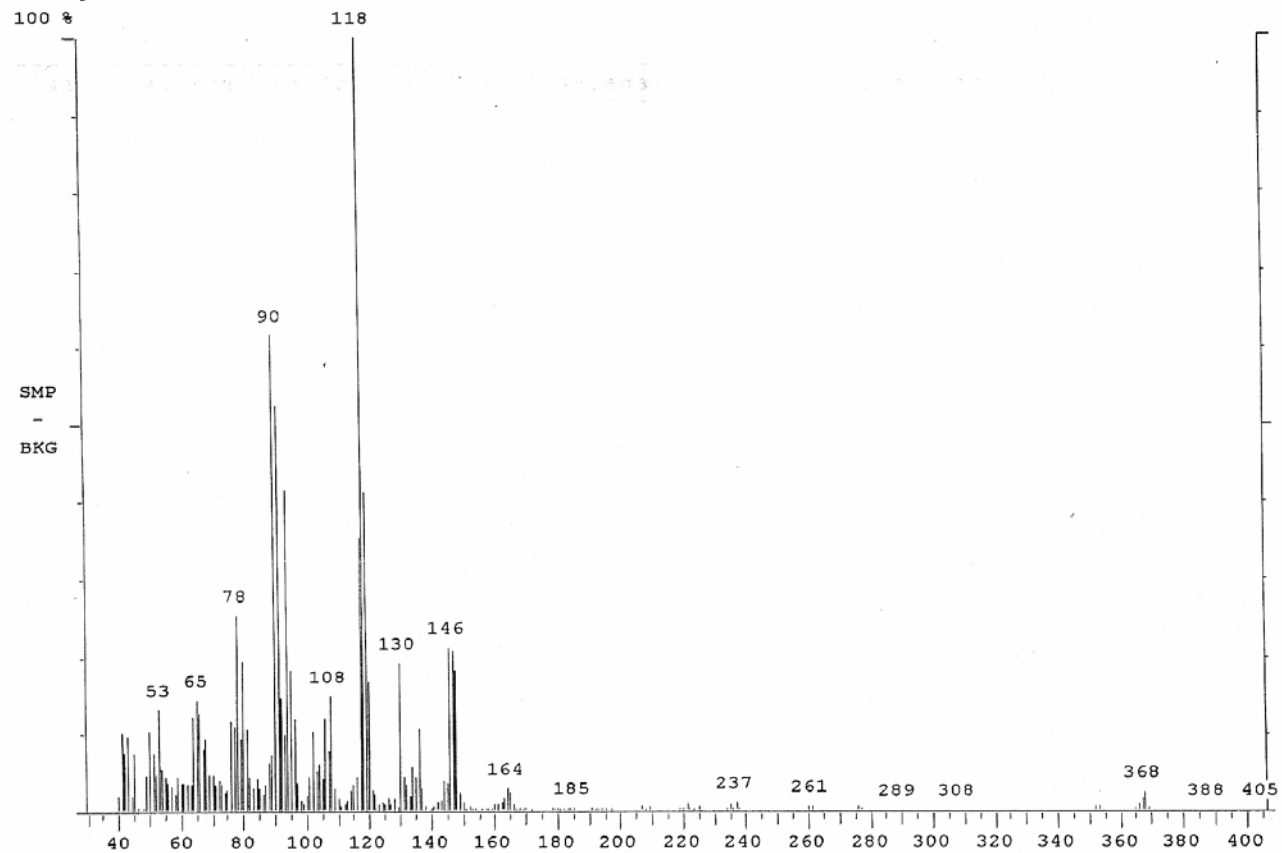
Date: Oct -16-2003 10:26:06

Comment: 3a. Coluna 121-155

Livia/Haroudo

Average of: 324 to 357 Minus: 530 to 651

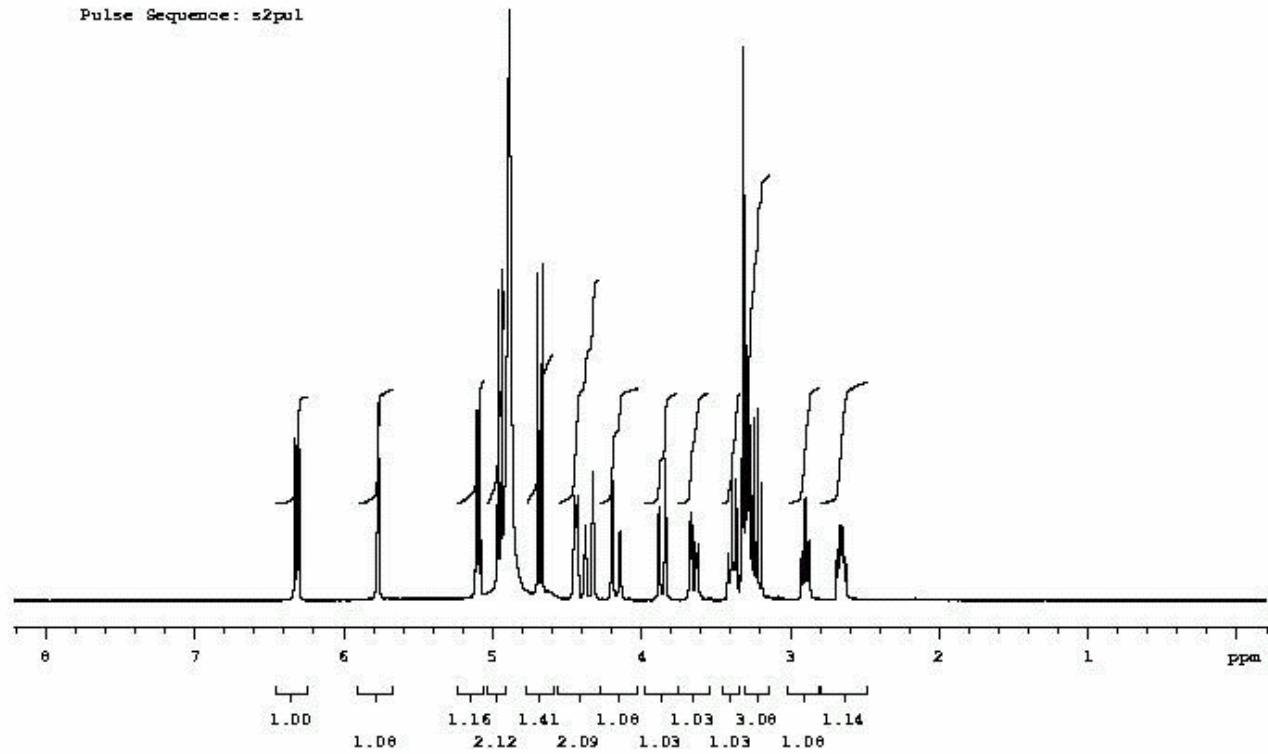
100% = 413898



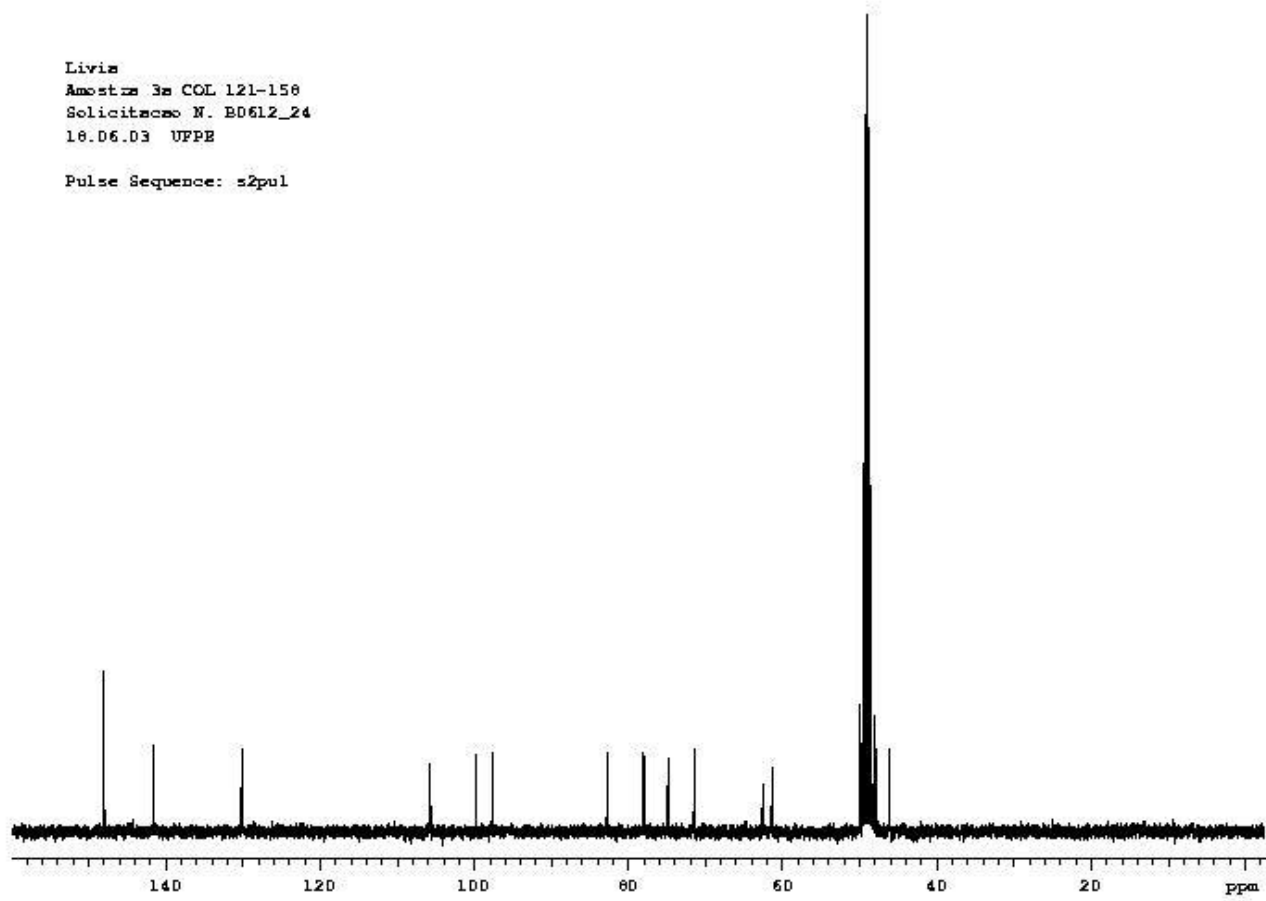
=====
 Mass List Average of: 324 to 357 Minus: 530 to 651 Datafile: B0923-33
 Comment: 3a. Coluna 121-155 Livia/Haroudo
 Base Pk: 118 Int: 413898 Pks: 420 Range: 40-459 Thrsh: 2% RIC: 4201708

| Mass | Intensity | % Base | Mass | Intensity | % Base | Mass | Intensity | % Base |
|------|-----------|--------|------|-----------|--------|------|-----------|--------|
| 41 | 41,903 | 10.12 | 79 | 38,503 | 9.30 | 119 | 171,072 | 41.33 |
| 42 | 31,565 | 7.63 | 80 | 80,773 | 19.52 | 120 | 69,408 | 16.77 |
| 43 | 39,765 | 9.61 | 81 | 43,734 | 10.57 | 121 | 11,244 | 2.72 |
| 45 | 31,684 | 7.66 | 82 | 19,004 | 4.59 | 122 | 9,492 | 2.29 |
| 49 | 19,139 | 4.62 | 83 | 11,866 | 2.87 | 130 | 79,879 | 19.30 |
| 50 | 42,798 | 10.34 | 84 | 17,952 | 4.34 | 131 | 18,745 | 4.53 |
| 51 | 31,127 | 7.52 | 85 | 11,757 | 2.84 | 132 | 14,732 | 3.56 |
| 52 | 20,015 | 4.84 | 86 | 9,056 | 2.19 | 133 | 8,336 | 2.01 |
| 53 | 54,886 | 13.26 | 87 | 14,482 | 3.50 | 134 | 23,579 | 5.70 |
| 54 | 22,594 | 5.46 | 88 | 25,989 | 6.28 | 135 | 18,372 | 4.44 |
| 55 | 18,230 | 4.40 | 89 | 29,991 | 7.25 | 136 | 44,104 | 10.66 |
| 56 | 15,665 | 3.78 | 90 | 255,275 | 61.68 | 137 | 11,997 | 2.90 |
| 57 | 13,363 | 3.23 | 91 | 217,738 | 52.61 | 144 | 16,443 | 3.97 |
| 58 | 8,851 | 2.14 | 92 | 61,123 | 14.77 | 145 | 15,295 | 3.70 |
| 59 | 18,060 | 4.36 | 93 | 40,935 | 9.89 | 146 | 88,475 | 21.38 |
| 60 | 15,023 | 3.63 | 94 | 172,148 | 41.59 | 147 | 86,183 | 20.82 |
| 61 | 15,065 | 3.64 | 95 | 75,342 | 18.20 | 148 | 75,935 | 18.35 |
| 62 | 14,087 | 3.40 | 96 | 49,642 | 11.99 | 149 | 9,529 | 2.30 |
| 63 | 13,891 | 3.36 | 97 | 15,052 | 3.64 | 164 | 11,657 | 2.82 |
| 64 | 50,470 | 12.19 | 100 | 8,400 | 2.03 | 165 | 10,046 | 2.43 |
| 65 | 59,878 | 14.47 | 101 | 18,618 | 4.50 | 368 | 9,604 | 2.32 |
| 66 | 52,658 | 12.72 | 102 | 42,864 | 10.36 | | | |
| 67 | 33,869 | 8.18 | 103 | 22,034 | 5.32 | | | |
| 68 | 38,677 | 9.34 | 104 | 25,041 | 6.05 | | | |
| 69 | 19,206 | 4.64 | 105 | 17,618 | 4.26 | | | |
| 70 | 19,685 | 4.76 | 106 | 49,634 | 11.99 | | | |
| 71 | 13,834 | 3.34 | 107 | 31,923 | 7.71 | | | |
| 72 | 16,355 | 3.95 | 108 | 62,224 | 15.03 | | | |
| 73 | 14,168 | 3.42 | 109 | 12,257 | 2.96 | | | |
| 74 | 10,449 | 2.52 | 114 | 11,014 | 2.66 | | | |
| 75 | 11,330 | 2.74 | 115 | 14,139 | 3.42 | | | |
| 76 | 47,796 | 11.55 | 116 | 18,190 | 4.39 | | | |
| 77 | 44,753 | 10.81 | 117 | 146,519 | 35.40 | | | |
| 78 | 105,539 | 25.50 | 118 | 413,898 | 100.00 | | | |

Livia
Amostra 3a COL 121-150
Solicitacao N. B0612_24
18.06.03 UFPE
Pulse Sequence: s2pul



Livia
Amosius 3s COL 121-158
Solicitaco N. B0612_24
18.06.03 UFPE



Livia
Amostra 3a Col 121-158
Solucitacao N. BD703_8
15.07.03 UFPE

Pulse Sequence: dept

CH3 carbons



CH2 carbons



CH carbons



all protonated carbons

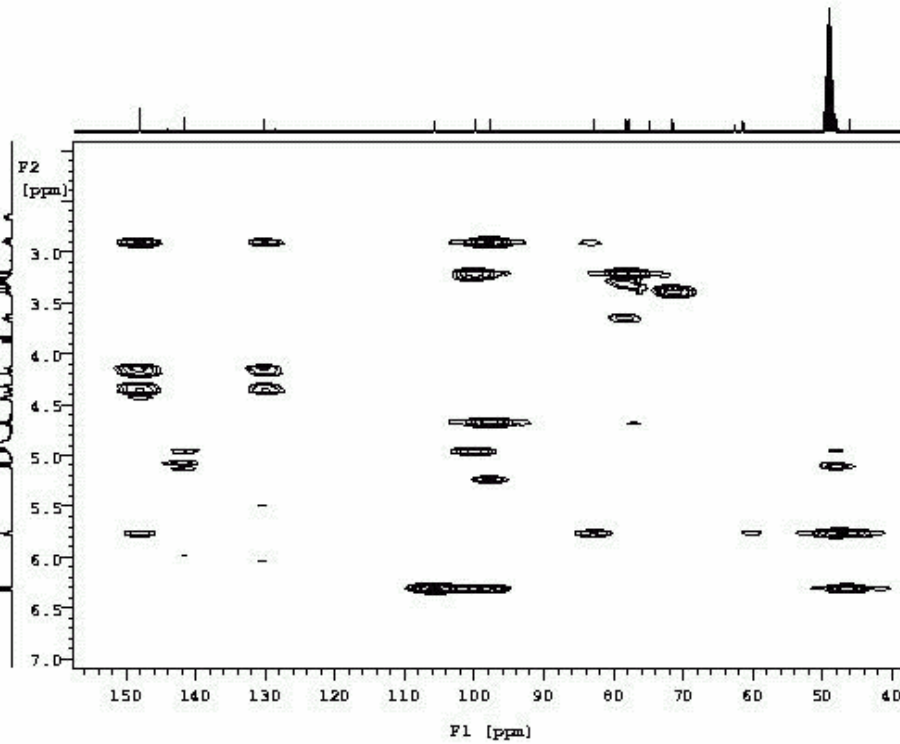


200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0 ppm

Livia
Amostra 3a Col 121-150
Solicitacao N. B0703_0
15.07.03 UFPE

Pulse Sequence: gHMBC
Solvent: CD3OD
Ambient temperature
File: B0703_0.gHMBC
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.128 sec
Width 4000.0 Hz
2D Width 16501.7 Hz
32 repetitions
100 increments
OBSERVE R1, 299.9545530 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.064 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.011 sec
PT size 1024 x 2048
Total time 1 hr, 5 min, 26 sec



Livia
Amostra 3a COL 121-158
Solicitacao N. B0612_24
18.06.03 UFPE

Pulse Sequence: HETCOR

Solvent: CD3OD
Ambient temperature
File: B0612_24.hetcor
UNITYplus-300 "UFPEu300"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.062 sec
Width 16501.7 Hz
2D Width 2999.5 Hz
32 repetitions
2 x 32 increments
OBSERVE C13, 75.4233303 MHz
DECOUPLE H1, 299.9560476 MHz
Power 35 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.029 sec
F1 DATA PROCESSING
Gauss apodization 0.079 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 37 min, 43 sec

